

氏名	千 日 成		
学位(専攻分野)	博 士(農 学)		
学位授与番号	博 甲 第 1148 号		
学位授与の日付	平成 5 年 3 月 28 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生物資源科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文題目	Studies on fertilization <i>in vitro</i> of bovine oocytes before and after maturation (成熟前後のウシ卵子の体外受精に関する研究)		
論文審査委員	教授 丹羽 皓二	教授 湯原 正高	教授 佐藤 勝紀
	教授 内田 仙二	教授 山本 格	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

ウシの摘出卵巣から得た未熟卵子を適当な条件下で培養すると第二成熟分裂中期(M-II)にまで成熟する。このような体外成熟卵子の体外受精は可能であるが、受精卵の体外における初期発生率はきわめて低い。このことは、未熟卵子の体外における成熟、受精および発生に必要な条件が必ずしも十分ではないことを示す。本研究では、最適な受精条件を見出すことを目的として、とくに卵子の成熟と精子侵入との関係について検討した。その結果、第一成熟分裂中期(M-I)以後の段階で休止した卵子は、精子侵入より何らかの刺激を受け成熟分裂を再開してM-II期までに成熟しうることを示唆された。一方、正常な受精率と初期発生率は成熟培養28~48時間の卵子と比較して20~24時間の卵子において有意に高かった。また、卵丘細胞は卵細胞の生理学的な成熟に重要な役割を果していることが示唆され、成熟の過程において、卵丘細胞が少なくとも12時間以上透明帯に密着している必要のあることが明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、ウシの未熟卵子および過熟卵子における精子侵入の動態とそれに伴う卵子の動態について検討して得られた次のような成果をまとめたものである。

1) 保存卵子への精子侵入：供試材料である卵子が常時使用できるように、非生理的な

条件下で保存された卵子への精子侵入の可否について調べた結果、硫酸アンモニア溶液に保存された未熟卵子および成熟卵子の精子侵入率は低く、保存卵子を新鮮卵子の代わりに用いるのは困難であると考えられた。

- 2) 未熟卵子の体外受精：成熟培地で12～20時間培養した未熟卵子を単独あるいは精子とともに培養を継続した結果、24時間後の卵子の成熟率は精子無添加よりも精子とともに培養した卵子において有意に高かった。一方、ノコダゾール、デメコルシンおよびDMSOはいずれもウシ未熟卵子の第一成熟分裂を可逆的に抑制することが明らかとなったので、未熟卵子をDMSO（8%）添加成熟培地で20時間培養後卵丘細胞を除去し、DMSOを含まない成熟培地でさらに0～8時間培養後に体外受精した結果、M-I期以前の卵子に侵入した精子は、卵子の成熟分裂の進行に対してほとんど刺激効果を有しないことが明らかとなった。
- 3) 加齢卵子の体外受精と初期発生：未熟卵子を成熟培地で20～48時間培養後に体外受精した結果、授精24時間後の正常な受精率と48～96時間後の初期発生率は成熟培養28～48時間と比較して20～24時間の卵子において有意に高かった。
- 4) 卵子の体外成熟と受精におよぼす卵丘細胞（CC）の影響：CC-付着および除去未熟卵子をそれぞれ24時間成熟培養した後に体外受精した結果、侵入卵子における雄性前核形成率はCC-除去卵子よりも-付着卵子において有意に高かった。また、授精96～168時間後の分割率はCC-除去卵子よりも-付着卵子において有意に高かった。さらに、24時間の成熟過程でCCが培養開始後8時間しか付着していなかった卵子に比べて12時間以上付着した卵子において雄性前核形成率は有意に高かった。一方、除去したCCとともに裸化卵子を成熟培養した結果、侵入卵の雄性前核形成率は低かった（58%）。成熟培養後にCC-付着および除去卵子をそれぞれ種々の精子濃度で体外受精した結果、精子濃度が $0.8\sim 1.5\times 10^6$ 精子/mlと低い場合、精子侵入率と多精受精率のいずれも、CC-付着卵子よりも-除去卵子において有意に低かった。

これらの知見は、とくに未熟卵子における精子侵入の動態とそれともなり卵子の動態を明らかにした初めてのものであり、受精生理学上きわめて興味深い成果と考えられる。本学位審査委員会は上記の論文内容および参考論文を総合的に審査し、本論文が博士（農学）の学位に値するものと判定した。