

氏名	中村 友美		
授与した学位	博士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博乙第	4 4 8 1	号
学位授与の日付	平成29年 9月29日		
学位授与の要件	博士の論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)		
学位論文の題目	成分既知培地を用いたブタ卵母細胞と胚盤胞の発生能および品質向上に関する研究		
論文審査委員	教授 齋藤 昇	教授 木村 康二	教授 舟橋 弘晃
学位論文内容の概要			
<p>本研究では、ブタ卵母細胞と胚の発生能および品質の向上を図り、動物由来成分を使用しない成分既知培地を用いた培養技術を確立するため、卵母細胞の成熟培養および胚盤胞の発生培養について検討を行った。</p> <p>第1章では、本論文の研究背景をまとめるとともに、意義および目的を述べた。</p> <p>第2章では、成熟培地への transforming growth factor (TGF)-αの添加が卵成熟と胚発生に及ぼす影響について検討した。その結果、TGF-αは卵母細胞の核成熟および体外受精後の胚発生を促進し、卵母細胞や胚の細胞内微細構造を変化させることを明らかにした。</p> <p>第3章では、成熟培地への TGF-αと卵胞刺激ホルモン (FSH) の添加が卵成熟および胚発生に及ぼす影響について検討した。その結果、TGF-αと FSH は卵母細胞の核成熟、卵丘膨化、および体外受精後の胚発生を相乗的に促進することを明らかにした。また、卵丘卵母細胞複合体における EGF 受容体阻害剤の影響や卵丘膨化関連遺伝子の発現動態の違いから、TGF-αと FSH の卵成熟への作用は一部異なることを明らかにした。</p> <p>第4章では、胚発生培地 (PZM-5) へのグルコースとグリシンの添加が胚盤胞の生存性および孵化に及ぼす影響を検討した。グルコースとグリシンは相乗的に胚盤胞の孵化を促進し、胚盤胞の生存細胞数を増加させることを明らかにした。</p> <p>第5章では、第4章で開発した発生培地 (PBM: グルコースとグリシンを添加した PZM-5) をガラス化保存液および加温液の基本液として用い、体外生産胚の耐凍性を向上させる至適培養条件 (胚の発生培地、発生ステージ、および培養日数の違い) について検討した。その結果、胚盤胞に比べて拡張胚盤胞で耐凍性が高いことを明らかにした。また、媒精後5日目の胚盤胞を PBM で1日間培養すると、胚の耐凍性が向上することを明らかにした。</p> <p>第6章では、本論文の総合考察および展望を記述した。</p> <p>以上のように、成分既知培地を用いて、卵母細胞の成熟と体外受精後の初期胚発生能を改善する成熟培養技術、および胚盤胞の発生を促進し品質と耐凍性を向上させる発生培養技術を開発することができた。</p>			

論文審査結果の要旨

本提出論文は、家畜の増殖手法およびヒト生殖補助医療技術として広く利用されている体外成熟・受精卵の作出効率の向上を図るために、完全合成培地へのtransforming growth factor- α (TGF- α) やグリシンなどの緒因子の添加が、ブタ体外成熟・受精卵の初期発生やガラス化保存後の生存能や発生能や卵母細胞の細胞質成熟に及ぼす影響を明らかにするとともに、それを利用した新たな培養系の確立に関する技術開発成果をまとめたものである。

先ず、TGF- α が卵成熟および胚発生に及ぼす影響について検討したところ、ゴナドトロピン不在下での体外成熟促進作用が認められ、ゴナドトロピン存在下では対外成熟・受精後の胚盤胞の微細構造を改変し、胚盤胞期への初期発生能が促進されることを見出した。また、TGF- α とFSHは異なる経路で卵成熟を相乗的に促進していることを明らかにした。また、胚盤胞卵の培養時にグリシンを添加すると、その後の孵化率、総細胞数を増加させ、アポトーシス細胞の出現頻度は低いことを明らかにした。また、これらの成果をガラス化保存液・加温液の基本液に応用することで、ガラス化保存後の胚盤胞の生存率及び孵化率を有意に改善し、正常な産子の作出に成功した。

以上の知見は、実用的かつ効率的なブタの受精卵の生産・保存技術として、さらにそれに係わる基礎資料として、高く評価できる。また、本提出論文が明らかにした知見は、人類にとって重要な肉資源の一つであるブタの改良増殖効率の改善に役立ち、産業上も極めて意義深いものである。これらの成果は、養豚現場だけでなく、ブタを用いた基礎研究の現場で有効ツールとして活用されるだけでなく、ヒトを含む様々な哺乳動物初期胚の体外生産での活用が期待できる。

以上のことから、本学位審査委員会は、これらの成果をまとめた本論文の内容および参考文献を総合的に審査し、本論文は、博士（農学）の学位に値すると判断した。