

氏名	舟 橋 弘 晃		
学位の種類	学 術 博 士		
学位授与番号	博 甲 第 835 号		
学位授与の日付	平成2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5条第1項該当)		
学位論文題目	哺乳動物初期胚における核移植に関する研究		
論文審査委員	教授 丹羽皓二	教授 猪 貴義	教授 田辺 昭
	教授 内田仙二	教授 田坂賢二	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

ラットの初期胚を用いて核移植に関連する基礎および応用実験を行った。まず、機械的な除核法と電気的融合法を利用することによって核移植が効率よく行えることを見出し、表現形質の異なる2品種のラットの前核期卵間の前核置換により、産子の形質発現が核に依存することを明らかにした。さらに、前核期卵の37℃における分割能は72時間の低温保存で著しく低下するが、より長期間（144時間）保存された前核期卵の両前核を移植された新鮮除核卵子は高率に分割することを見出し、核移植の実用的な利用形態および核の低温保存の可能性を示唆した。また、マウスとラットの前核期卵において相互核置換を行い、マウスの前核を移植したラットの再構築胚が胚盤胞期まで発生しうることを明らかにし、核遺伝子が属の異なる種の細胞質内で発現しうることを証明した。これらの成果から、核移植により貴重な遺伝資源である哺乳動物受精卵の有効利用の可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、主にラット初期胚の核移植に関連する基礎的ならびに応用的実験を通して得られた成果についてまとめられたものである。内容は大きく分けて次の3つから構成されている。

1) 紫外線のスポット照射による雄性前核の不活性化

顕微分光測光装置を用いて、ラット前核期卵の雄性前核に紫外線を1～10分間局部的に照射した結果、雄性前核の機能を完全に抑制できなかったが、30分間の照射により雄性前核はほぼ完全に不活性化され、照射後に倍化处理を行った胚の多くは桑実期

あるいは胚盤胞期にまで発生した。この結果から著者は、紫外線の核への局部的照射が除核の手段として有効に利用されうることを示唆しているが、核移植の際には雌雄両前核を除去するために少なくとも60分間を要することになり、本法の実用的価値は少ないと考えている。

2) ラット前核期卵における核置換

ラット2細胞期胚の電気刺激による割球融合条件について調べ、適度の強さ(1.0~2.0 KV/cm)と長さ(50~100 μ sec)の電気パルスを付与することによって、割球面での膜融合を介して両割球が効率よく融合しうることを明らかにした。また、この電気細胞融合法を核体の除核卵への導入手段として利用し、表現形質の異なる2品種のラットの両前核期卵間で前核置換を行い、正常な産子を得るとともに、その形質発現が核に依存することを示した。

さらに、核移植の実用的な利用形態の一つとして、核の低温保存の可能性を検討するために、低温(2~6℃)保存したラット前核期卵の両前核を新鮮な除核前核期卵に移植し、保存期間の延長に伴う発生率の変化について調べられた。その結果、操作を加えない前核期卵の37℃における分割能は72時間の低温保存においてすでに著しく低下するが、より長期間(144時間)保存された前核期卵の両前核を移植された新鮮除核卵は高率に分割することを見だし、核自体は低温下でより長時間生存しうることを示唆した。

3) マウスおよびラットの両前核期卵における相互核置換

異種動物間の両前核と卵細胞質との相互作用について検討するために、属の異なるマウスとラットを用い、まず少量の細胞質だけを他方の受精卵に導入し、その新構築胚の初期分割は完全には阻害されないことを見いだした。つぎに別の実験において雌雄両前核の相互置換を行い、マウスの両前核を移植されたラットの再構築胚が胚盤胞期まで発生しうることを明らかにした。これらの結果から著者は、核遺伝子が属の異なる種の細胞質内で発現し、胚内で新たな蛋白質合成が行われたと考えている。

本学位審査会は、上記の論文内容および参考論文を総合的に審査し、本論文が学術博士の学位に値するものと判定した。