

氏名	澤 井 健
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第1624号
学位授与の日付	平成9年3月25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 Male Pronuclear Formation after <u>In Vitro</u> Fertilization of Pig Oocytes ブタ体外受精卵子の雄性前核形成に関する研究
論文審査委員	教授 丹羽 皓二 教授 近藤 康博 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

ブタ体外受精卵子の雄性前核 (MPN) 形成にシステインの関与していることが知られている。本研究では、MPN形成に対するシステインの作用機構を明かにする目的で、成熟過程におけるシステインと他の幾つかの要因がブタ体外受精卵子のMPN形成におよぼす影響について検討した。その結果、1)ブタ卵子内のグルタチオン (GSH) 濃度が高くなることによって、侵入した精子核の十分な脱濃縮が誘起され、それによってMPN形成が促進されるが、これらの過程は卵子の活性化と密接に関連していること、2)卵子核成熟が第一成熟分裂中期から第二成熟分裂中期に至る成熟過程の後半時期 (培養開始後42-48時間) にのみシステインが存在することによって、MPN形成に十分なGSHが合成されること、3)卵丘細胞除去卵子においてもシステインによるGSH合成は可能であるが、シスチンによるGSH合成には卵丘細胞の存在が必要である、ことが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

ブタにおける体外受精では、多精受精の頻度が高く、さらに卵子内に侵入した精子核の雄性前核(MPN)形成率が低い。最近、成熟培地におけるシステインの存在が、ブタ体外受精卵子のMPN形成に関与していることが明らかにされた。本論文は、成熟過程におけるシステインと他の幾つかの要因が、ブタ体外受精卵子のMPN形成におよぼす影響について検討した一連の実験から得られた以下のような成果をまとめたものである。

1) システイン(0.57 mM)添加培地で培養された未熟卵子について、精子核の脱濃縮を誘起する重要な因子と考えられているグルタチオン(GSH)の卵細胞内濃度を継時的に測定するとともに、卵子内に侵入した精子核のMPN形成について調べた。その結果、培養後24時間の卵子内GSH濃度は培養開始時のそれと比較して有意に高くなり、その濃度は培養終了時(48時間)まで維持された。一方、未熟卵子に侵入した精子核は、卵子が成熟して雌性前核が形成(活性化)されると、高率にMPNを形成した。システイン無添加の場合には、GSH濃度はむしろ継時的に低下し、活性化卵子におけるMPN形成率も低かった。

2) 成熟後の卵子のGSH濃度およびMPN形成率は、培養開始後36時間に至るいずれの時間にシステインを除去しても、培養の全期間(48時間)システインが存在していた場合と比較して低下した。一方、システインを培養開始後36-42時間で添加しても、培養開始時から添加した場合と比較してMPN形成率およびGSH濃度の低下は認められなかった。しかし、培養開始後45時間でシステインを添加するとMPN形成率およびGSH濃度はいずれも有意に低下した。

3) システインおよび酸化型システインであるシスチンの卵子による利用性と卵丘細胞との関連性について検討した結果、卵丘細胞付着卵子においては、48時間培養後のGSH濃度とMPN形成率はいずれも、システインあるいはシスチンの非存在下よりも存在下において成熟した卵子において高かった。一方、卵丘細胞除去卵子では、システインによるGSH合成は可能であったが、シスチンによるGSH合成は認められなかった。

これらの知見は、ブタ卵子の体外受精系の確立に寄与するのみならず、哺乳動物におけるMPN形成の機構を理解する上できわめて有用な示唆を与えるものである。本学位審査会は、これらの成果をまとめた本論文の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。