

氏 名	NGUYEN THANH HAI		
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	6 9 3 9	号
学位授与の日付	2 0 2 3 年 9 月 2 5 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)		
学位論文の題目	Assessment of factors affecting the motility and viability of frozen-thawed bull spermatozoa (ウシ凍結融解精子の運動性及び生存性に影響を及ぼす諸因子に関する評価)		
論文審査委員	教授 木村 康二	教授 舟橋 弘晃	教授 辻 岳人 准教授 若井 拓哉
学位論文内容の要旨			
<p>Although low pregnancy rate of frozen-thawed bull semen is associated with many factors and aspects, poor quality parameters, especially motility, of bull semen frozen in straws after thawing significantly contributes to the failure rate following AI, since the motility parameters are positively correlated with bull fertility. There may be many potential factors affecting frozen bull semen during cryopreservation, but it may be valuable to reconsider if there is any space to be reanalyzed the effect of the thawing procedure on the quality of frozen-thawed bull semen to overcome existing disadvantages under conventional thawing methods to increase the motility and other vital quality characteristics of post-thawed spermatozoa. Furthermore, mitochondria, recognized as necessary multitasking organelles for energy production besides other physiological functions, play a central role in semen quality and sperm fertilizability. Therefore, the goal of this dissertation were to assess the motility and other numerous vital parameters of frozen bull spermatozoa and their relationships under different conditions.</p> <p>First, effectiveness of rapid thawing by using various post-thawed parameters of frozen bull spermatozoa was evaluated. Results indicated that rapid thawing at 70°C and then stabilization at 39°C significantly improves motility, viability and mitochondrial health of bull spermatozoa rather than conventional thawing, probably due to shorter exposure to temperatures outside the physiological range.</p> <p>Furthermore, relationships between mitochondrial DNA copy number (MDCN) or mitochondrial content (MC) and motility indicators of frozen-thawed bull spermatozoa were investigated. Findings revealed that MDCN and MC of frozen spermatozoa differ among sires, and are negatively correlated with high mitochondrial membrane potential and motility parameters, probably due to mitochondrial oxidative stress resulted in the presence of reactive oxygen species (ROS), demonstrating that these appear to be useful markers to assess sires' spermatozoa. The MDCN and MC of bull spermatozoa may not vary overall with the sire age, whereas those changes with age in some individuals and may affect sperm motility.</p> <p>Therefore, this dissertation suggests that better motility and other vital quality parameters of frozen bull semen are attained from rapid thawing and/or from spermatozoa of good-quality sire bulls carrying less MDCN and MC per spermatozoon. Motility and other quality parameters of frozen bull semen after thawing are significantly decreased, probably due to significant positive correlations with ROS associated with elevated MDCN and MC. This dissertation also provides the important theoretical and practical implications for potential approaches to enhance the motility and other important quality parameters of frozen-thawed bull spermatozoa.</p>			

## 論文審査結果の要旨

本研究は、ウシ凍結融解精子の運動性および生存性に影響する諸要因について評価検討を行った報告である。家畜種、特にウシにおける人工授精は、広く利用され、乳用牛や肉用牛の改良に最も寄与している技術といえる。しかし、我が国を含む先進国で、人工授精後の受胎率が漸進的に低下しているにもかかわらず、精液の凍結・融解過程に関する改良は長く行われていない。また、凍結精子の融解後の運動性は受胎性と高い相関が知られていることから、本研究は、運動性および生存性に影響する諸要因のうち、影響が大きい融解過程と精子の運動性の源であるATP生産を担うミトコンドリア量との関係について検討を行っている。

まず、融解時の凍結精液ストロー内温度の変化から高温に短時間さらすことで体温まで急速に融解し、その後、体温で維持するほうが、体温で融解・保持する従来の方法に比べ、ミトコンドリア膜電位や運動性が良好であることを明らかにした。

次いで、種雄牛間でミトコンドリア量およびミトコンドリアDNAコピー数に差があることを見出し、それらの量が、精子内ROS量から推定される酸化ストレスのため、運動性と負の相関があることを見出した。

これらの成果は、原著論文2編にまとめられ、査読のある国際学術雑誌から採択され、電子版が既に公表されている。これらの成果は、さらに学位論文として考察を加え、しっかりまとめられており、ウシの人工授精による更なる改良増殖に寄与する情報や根拠を分かり易く提供しており、学術的に高く評価できる。

ゆえに、本学位審査委員会は、本学位論文が博士（農学）の授与に十分値すると評価する。