

学位論文題名

ウシ体外受精卵の体外培養に関する研究

学位論文内容の要旨

ウシの体外受精技術は、屠体卵巣を利用した品種改良や優良個体の増殖を可能とする。この技術を効率的に活用するためには、体外受精卵を受卵牛への移植の可能な胚盤胞期まで体外で発育させる必要がある。そこで本研究では、安定して高率に胚盤胞が得られるウシ体外受精卵の体外培養系の確立を目的として、以下の実験を行った。

ウシ体外受精卵の胚盤胞への発育に及ぼすウシ卵管上皮細胞 (BOEC) との共培養と血清添加の影響について検討したところ、BOECとの共培養はウシ体外受精卵の発育を促進し、その際に血清の添加は必要ないことが明らかとなった。

培養気相中の酸素濃度とBOECの影響を検討したところ、培養気相中の酸素濃度を低下 (5%) させることにより、培養液への血清や蛋白の添加あるいは共培養細胞による支持を必要とすることなく、ウシ体外受精卵の発育が可能であることが明らかとなった。また、共培養におけるBOECの有用な働きの一つが培養液中の酸素分圧の低減であることが示唆された。

培養液の水質の影響について検討したところ、ウシ体外受精卵は培養液作製に用いる水の純度に対して著しく鋭敏であり、その発育は用いる水の精製方法および保存期間に強く影響されることが明らかとなった。

培養液の組成の影響について検討したところ、ウシ体外受精卵の培養には、高濃度のグルコースを含む修正TCM199よりも、低濃度のグルコース(1.5mM)を含む修正合成卵管液が適していることが明らかとなった。

以上により、培養気相中の酸素濃度を低下させ、高純度の水で作製した低グルコース濃度の培養液を用いることで、BOECとの共培養や蛋白添加を行うことなく、化学的組成が明らかな培養液を用いて、ウシ体外受精卵を効率的に胚盤胞へ発育させる培養系が確立された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 金 川 弘 司
副 査 教 授 板 倉 智 敏
副 査 教 授 渡 辺 智 正
副 査 助 教 授 高 橋 芳 幸

学位論文題名

ウシ体外受精卵の体外培養に関する研究

ウシの体外受精技術は、屠体卵巣を利用した品種改良や優良個体の増殖を可能とする。この技術を効率的に活用するためには、体外受精卵を受卵牛への移植の可能な胚盤胞期まで体外で発育させる必要がある。そこで本研究では、安定して高率に胚盤胞が得られるウシ体外受精卵の体外培養系の確立を目的として、以下の実験を行った。

ウシ体外受精卵の胚盤胞への発育に及ぼすウシ卵管上皮細胞 (BOEC) との共培養と血清添加の影響について検討したところ、BOECとの共培養はウシ体外受精卵の発育を促進し、その際に血清の添加は必要ないことを明らかにした。

培養気相中の酸素濃度とBOECの影響を検討したところ、培養気相中の酸素濃度を低下 (5%) させることにより、培養液への血清や蛋白の添加あるいは共培養細胞による支持を必要とすることなく、ウシ体外受精卵の発育が可能であることを明らかにした。また、共培養におけるBOECの有用な働きの1つが培養液中の酸素分圧の低減であることが示唆された。

培養液の水質の影響について検討したところ、ウシ体外受精卵は培養液作製に用いる水の純度に対して著しく鋭敏であり、その発育は用いる水の精製方法および保存期間に強く影響されることを明らかにした。

培養液の組成の影響について検討したところ、ウシ体外受精卵の培養には、高濃度のグルコースを含む修正TCM199よりも、低濃度のグルコース (1.5mM) を含む修正合成卵管液が適していることを明らかにした。

以上により、培養気相中の酸素濃度を低下させ、高純度の水で作製した低グルコース濃度の培養液を用いることで、BOECとの共培養や蛋白添加を行うことなく、化学的組成が明らかな培養液を用いて、ウシ体外受精卵を効率的に胚盤胞へ発育させる培養系が確立された。これらの成果は、ウシ体外受精技術の著しい効率化を可能とし、畜産および発生工学の発展に貢献するところが大きい。よって、審査員一同は、長尾慶和氏が博士 (獣医学) の学位を受ける資格を有するものと認めた。