

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 グエン リン ヴィエ  
NGUYỄN LINH VIỆT

ブタは畜産業における食肉生産のための重要な家畜としてばかりではなく、遺伝子改変技術を用いて医療用のモデル動物や臓器の異種移植のための資源となりえる重要な動物であるが、効率的生産が容易ではない。ブタを効率的に生産するために受精や発生可能卵や胚を体外で効率的に生産することが重要であり、卵や胚さらには最終的には産仔の産出のために一連の体外生産技術（IVP）が発展してきた。しかし IVP により作製されたブタ胚の発生能力は体内で発生した胚と比較すると大幅に劣るので、体外成熟した卵の細胞質成熟度を向上させることがこれの解決に導く重要な課題である。

申請者は、大気中酸素分圧 (20%) 下で体外成熟 (IVM) を行う際に培養液にグルタチオン (GSH) を添加すると雄性前核 (MPN) 形成能を向上させることが見出されたので、一層の卵細胞質成熟を向上させるために低酸素分圧 (5%) 下で培養し、この培養液中にシステインを添加して体外受精 (IVF) におよぼす影響を検討した。低酸素分圧下では培養液に低濃度のシステインを添加するだけで細胞質成熟を完了させることができた。ついでより一層細胞質成熟度を高める新規な手法を開発した。すなわち細胞質成熟度の高い卵に 2 回連続遠心処理 (centri) を施して細胞質小片を調製し、これを細胞質成熟度の低い卵と融合 (fusion) させることで細胞質成熟度の低い卵の受精能や発生能を向上させることができる centri-fusion 法を創出した。これによって優れた遺伝形質をもつが受精能と発生能が低い卵に受精能の高い卵の細胞質小片を融合することで受精能と発生能をともに改善することが可能となった。そこで細胞質小片に含まれる何が受精能と発生能を改善するのか検討した。細胞質小片には褐色の B 小片、透明な T 小片および層状構造をもつ H 小片があるが、受精能と発生能の改善は B 小片と T 小片でのみ認められた。B 小片にはミトコンドリアが集積し、T 小片には細胞内小器官がほとんど含まれていなかったが、ともに ATP 含量は高

かった。H小片の ATP 含量は低かった。B小片2個ずつ、T小片2個ずつあるいはB小片とT小片を1個ずつ（併せて2個）融合させるといずれの場合でも受精能と発生能が改善されたが、改善率は同等であった。受精や胚発生には融合する細胞小片中のミトコンドリア量やその機能は重要ではなく、含まれる ATP 量が重要であることが分かった。

以上のように、本研究によって創出された centri-fusion 法によって、受精能と発生能が低い卵に受精能の高い卵の細胞質小片を融合することで成熟度を改善し、受精能と発生能をともに高めることができるようになり、貴重な雌性遺伝子資源の再生が可能となった。これは博士（農学）の学位を受けるに相応しい研究成果である。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。