

学位論文の審査結果の要旨

本論文は、動物発生工学の発展を支える「生殖細胞の凍結保存」技術に関するものである。マウス・ラットに代表されるげっ歯類、ならびに霊長類のヒトではガラス化法を適用した未受精卵子の凍結保存技術がほぼ確立されているが、ウシやブタなどの主要産業家畜では蘇生させた未受精卵子からレシピエント子宮への移植が可能となる胚盤胞への発生率は極めて低い。卵細胞質内に存在する脂質顆粒の量が産業家畜では多いことが耐凍性の低さと関係すると示唆されているが、機械的な顕微操作によって卵細胞質から脂肪顆粒を取り除いて未受精卵子の耐凍性を改善するというのでは、そこで構築された技術の普及を考えると根本的な解決にはならない。未受精卵子が受ける凍結傷害として、受精前にも関わらず多精子侵入の防御機構のひとつである表層崩壊が起こって透明帯が硬化してしまうこと、ならびにチューブリン重合阻害によるM期紡錘糸の機能不全が染色体の断片化や極体放出抑制を引き起こしてしまうこと、がこれまでに報告されてきた。本研究において、ガラス化・加温後のウシ未受精卵を体外受精すると胚盤胞まで発生できるものは少なく、精査するとこれは前核期から二細胞期への第一卵割に時間がかかることと関係していた。さらにガラス化・加温卵子の細胞質は、通常は単一の精子星状体を発達させるのに対し、複数の星状体形成を引き起こしてしまうという例が多いことを発見した。このような複数の星状体を形成していた受精卵には前核発育に遅延が認められ、未受精卵子の凍結傷害に関する第3の仮説を提唱することとなった。次に、アポトーシス抑制によりヒト凍結幹細胞の蘇生に有効と報告された ROCK 阻害剤に着目し、ウシ成熟未受精卵の加温から体外受精に供するまで2時間の回復培養に同阻害剤、Y-27632 を添加したところ、胚盤胞発生率が有意に改善されることを見出した。この機能回復において Y-27632 処理は複数の星状体形成を抑制し、微小管形成中心としての働きを正常化させていたことを確認した。精子侵入から第一卵割までに要する時間も確かに短縮されていた。このように、本知見を発展させてウシ未受精卵子の保存技術が確立されることになれば、家畜育種等の産業利用のみならず、遺伝資源保存事業（卵子バンク）にとっても有用な基盤技術が整備されることとなる。

上記の内容をコンテンツとする Hwang In-Sul 氏の学位論文は、2編の英語発表論文（いずれもカテゴリー別インパクト係数ランキングで上位 30%以内に入る生殖生物学領域の国際誌）に基づいて、読者にとって研究背景の理解を助ける図表を各章に補いながら、正確な英語で書かれていた。公聴会・最終試験において確認できた英語力や基礎学力、プレゼンテーション能力を含め、同氏は「博士（農学）」の学位を授与されるに十分に値する、と審査委員全員一致で判断した。

公表主要論文名

1. H. Hara, I-S. Hwang, N. Kagawa, M. Kuwayama, M. Hirabayashi, S. Hochi. (2012) High incidence of multiple aster formation in vitrified-warmed bovine oocytes after in vitro fertilization. *Theriogenology*, 77 (5), 908-915. 【2012年3月発行に掲載】
2. I-S. Hwang, H. Hara, H-J. Chung, M. Hirabayashi, S. Hochi. (2013) Rescue of vitrified-warmed bovine oocytes with Rho-associated coiled-coil kinase inhibitor. *Biol. Reprod.*, 89 (2), 26 1-6. 【2013年8月発行に掲載】