

半導体原理を用いた生殖細胞機能のリアルタイム計測と評価

Real-time monitoring and evaluation of germ cell function using a semiconductor principle¹ 東京大学大学院工学系研究科、² JST CREST齋藤 暁子^{1,2}、坂田 利弥^{1,2}¹ School of Engineering, Univ. of Tokyo, ² JST CRESTA. Saito^{1,2}, T. Sakata^{1,2}sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

【はじめに】生殖補助技術(Assisted Reproductive Technology;ART)の分野において、体外受精をはじめとする技術は不妊症の治療だけではなく、有用家畜や実験動物、さらに絶滅危惧動物などの作出や増殖・保護などを目的として多岐に普及・応用されている。しかしながら、生殖細胞の状態は、顕微鏡下での形態学的特徴により判断することが一般的であり、それらの選択法におけるその後の着床率および発生率に対する効果については十分な確証が得られていない。本研究の目的は、生殖細胞(受精卵・精子)の機能や受精能力の状態を細胞呼吸をバイオパラメータ(指標)として半導体原理により簡便に計測・評価可能か検討する。

【実験方法と結果】生殖細胞(受精卵・精子)の評価には、ゲート部から金属電極を取り除いた溶液/ゲート絶縁膜/半導体からなる絶縁ゲート型電界効果トランジスタ(Insulated gate field effect-transistor;IGFET)とゲート部となる金属電極をトランジスタから伸長した伸長ゲート型電界効果トランジスタ(Extended gate FET;EGFET)の2種類を用いた。前者では、Ta₂O₅/(Si₃N₄/SiO₂)をゲート絶縁膜とする n チャネルデプレッション型の FET、すなわち ISFET(Ion Sensitive FET)を用いた。後者では、スパッタリング法によりガラス基板に Au/(Ti)薄膜を作製しこれを伸長ゲート電極とした。特に、受精卵の計測には、Au 電極表面にアミノ基を末端に有するチオール化合物を化学修飾し用いた。一方、精子の計測には、Au 電極表面にカルボキシル基を末端に有するチオール化合物を化学修飾し、マウス精子先体反応の受容タンパク質として知られる ZP3 を電極表面のカルボキシル基とアミド結合により固定した。いずれの実験においても使用する培養液はセンサー表面上に前日より炭酸ガス培養器内(5%CO₂, 37°C、湿度 95~97%)に静置し気相雰囲気と平衡化させた。9~10 週齢の ICR 系雄マウスを屠殺後、精巣上体尾部を摘出し培養液内で採精し、1h~2h 培養後の受精能獲得させた精子を使用した。その後、最終濃度精子数に調整した希釈精子浮遊液を各センサー上の培養液中へ添加した。精子の計測は添加後、5h から 6h 計測し評価を行った。さらに、同様の希釈精子浮遊液を使用し体外受精を行った。5h 媒精し、媒精終了後の受精卵を 5 日間計測した。電気特性評価には半導体パラメータアナライザーおよびリアルタイム FET 測定装置を用いた。

本研究ではゲート電極の材料やその表面処理を ISFET に比べてより自由に設計可能な伸長ゲート型 FET を用いて、これまでの ISFET と同様の実験を行った。その結果、計測対象物に合わせて様々なバリエーションで電極構成の設計が可能であることがわかった。

(謝辞)本研究の一部は JST CREST の支援を受けた成果である。

(参考文献)1.新編 精子学;毛利 秀雄,星 元紀,森沢 正昭,星 和彦,岡部 勝 著/東京大学出版会。