

半導体バイオセンサによる人為的受精能獲得精子とその抑制作用の評価

Evaluation of artificially-induced capacitation and inhibitory effect by using semiconductor-based biosensor

東京大学大学院工学系研究科

○齋藤 暁子、加治佐 平、坂田 利弥

School of Engineering, Univ. of Tokyo

○A. Saito, T. Kajisa, T. Sakata

sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

【はじめに】受精能獲得とは、哺乳類精子が雌性生殖路内を移動する過程で生ずる特有の現象である。精子は受精能獲得により先体反応を起こすことができ、卵子を受精させる能力を獲得する。これらの現象が Ca イオン依存性の生理的変化であることは知られており、人工的に培養液中でも受精能獲得を起こすことはできるが、その間、精子にどのような変化が起きているのかは現在でも不明な点が多い。前回までに、採精後、30分培養を行った精子を300Gで20分遠心洗浄し、最終精子濃度 1×10^6 sperm/ml になるよう Ion Sensitive Field Effect Transistor (ISFET) 上の培養液へ添加し計測を行った。計測に用いた培養液は Progesteron 溶液(0, 20, 40, 60 μ M)を加えたものと、培養液に含まれている Ca を除いたものを用いた。その結果、Progesteron 濃度 40 μ M の培養液中へ添加した精子の呼吸活性は高く、Ca-free の培養液中では電位変化に差が見られなかった。このことから、精子の受精能発現には精子膜上に存在する Progesteron 受容体や細胞外 Ca が深く関与している可能性が高いことを報告した。本研究では、さらに精子の受精能力獲得現象と受精能破壊因子 (decapacitation factor; DF) の両面を半導体原理により計測・評価可能か検討する。

【実験方法と結果】受精能獲得精子の評価には、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 ISFET を用いた。前回までの実験と同様、ISFET を用いてマウス精子を液中の電位変化によって評価した。まず、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、300G で 20 分遠心洗浄した精子を用いた。DF の評価では、精子において発生した活性酸素種(ROS)が精子活性に与える影響を、ROS の一つである過酸化水素(H₂O₂)を採精後の精子懸濁液へ加え、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に添加し、その代謝量を精子液を添加後 5h から 6h 計測を行い電位変化により評価した。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。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中で平衡化させた。その結果、半導体バイオセンサにより精子呼吸活性変化を pH 変化として検出することで DF 評価の可能性が見出された。本研究での再現性や定量性を評価・考察した結果については当日議論したい。