
電気化学計測技術を応用した高精度ウシ受精卵品質評価法の開発

山形大学大学院理工学研究科・教授 阿部 宏之

■ 目的

体外受精技術は牛の品種改良や増産を可能とする基盤技術として広く普及しているが、移植胚の受胎率は伸び悩んでいる。受精卵移植の成功率向上には、精度の高い受精卵品質評価技術の開発が不可欠である。これまで研究により、ウシ胚の品質とミトコンドリアの呼吸機能が密接に関連していることが明らかになっている。本研究では、電気化学計測技術を応用した受精卵呼吸測定システムを開発し、ミトコンドリア呼吸機能を指標とする精度の高いウシ胚品質評価法の確立を目的とした。

■ 方法

電気化学計測の基盤である走査型電気化学顕微鏡(scanning electrochemical microscopy ; SECM)は、局所領域における生体反応を高感度・非侵襲的にモニタできる装置である。酸素還元電流を検出できる微小電極をプローブとする SECM を用いることで、単一受精卵の呼吸活性測定が可能である。本研究では、ウシ胚の呼吸活性測定に特化した細胞呼吸測定システムの開発を目的に、(1)単一受精卵の酸素消費量を測定するための高感度センサープローブ電極、(2)受精卵のミトコンドリア機能と計測感度影響しない呼吸測定液の開発を行った。最終的には、これら要素技術を SECM に組み入れた「ウシ受精卵呼吸測定システム」を構築し、受精卵の培養実験やミトコンドリア呼吸機能の生物学的解析により呼吸測定システムの有効性と安全性を評価した。

■ 結果および考察

マイクロ電極の感度を向上させるために、白金電極の電解エッチング法、白金電極をガラスキャピラリーに封入するための熱封止及び封止後の電極研磨のそれぞれの工程を改良した。その結果、酸素還元条件下(-0.6V 荷電下)において還元電流 -1.0nA 以下の感度を有するディスク型マイクロ電極を作製することができた。電極サイズが酸素消費量計測に及ぼす影響について検討した結果、単一ウシ胚の呼吸量計測に適した白金先端径が2～5 μ m であることがわかった。次に成分組成が異なる数種類の培養液中での計測感度を解析した結果、受精卵の培養に用いられる HTF(human tubal fluid)培地を測定液として用いた場合、長時間にわたって安定した還元電流を計測できることがわかった。本研究では、HTF 培地を基本とする受精卵呼吸測定液を開発することができた。

マイクロ電極及び受精卵呼吸測定液と、既に開発済の多検体測定プレートおよび呼吸解析ソフトをシステム化した「受精卵呼吸測定システム」を構築した。この受精卵呼吸測定システムを用いてウシ胚の酸素消費量測定を行った結果、単一胚の呼吸測定が可能であった。各発生ステージのウシ胚の呼吸量を測定した結果、桑実胚から胚盤胞のステージにおいて有意に呼吸量が上昇すること、形態良好胚は形態不良胚と比べて呼吸活性が高いことが明らかになった。また、呼吸量の大きい胚ではミトコンドリアの膜電位活性が高く、電子伝達系が活発に働いていることが示唆された。

以上の結果から、本研究で開発した「受精卵呼吸測定システム」は呼吸活性を指標に受精卵の品質評価できる有効な装置であることが示された。

■ 結語

本研究では、電気化学計測に用いる高感度マイクロ電極と非侵襲測定液を開発した。SECM とこれら要素技術をシステム化した細受精卵呼吸測定システムを構築することができた。この測定システムは、単一ウシ胚の酸素消費量を非侵襲的に測定することが可能であり、呼吸量を指標に品質良好胚を選別する新しい受精卵品質評価法の有力な技術として期待される。