

公益財団法人富山第一銀行奨学財団

理事長 金岡 純二 殿

助成研究成果概要報告書

教育機関名 : 富山大学	助成金額 :	850 千円
研究代表者 : 西園 啓文	所属 : 研究推進機構研究推進総合支援センター	職位 : 助教
研究題目 : 富山県のマイクロ加工技術を用いたヒトおよびウシ非侵襲受精卵発生能測定装置の開発		

研究概要

わが国で不妊に悩む患者は、厚生労働省の統計ですでに 46 万人以上存在すると推計され、全出生児の『37 人に 1 人が生殖補助医療を受け誕生した子ども』という状況になっている。実はこの状況は人間だけでなく、ウシでも同様のことが起こっている。この両者の問題に共通する『受胎率の低下』について、効果があるとされているのは母体の栄養管理・健康管理や人工授精や体外受精、顕微授精などの技術レベルの向上、またその他に受精卵の品質 (oocyte/embryo quality) を非侵襲下で測定し、最も質の良い受精卵だけを母胎に戻すという技術などが挙げられ、特に受精卵の品質測定技術に関する研究は最も新しく、注目されている分野である。

一方で、富山県にはプラスチックやアルミ加工、なかでもマイクロ加工を得意とする企業が多く集積している。これらの企業はすでに本学や富山県立大学などと数多くの産学連携事業を実施し、優れた事業シーズを生み出してきている。

そこで本研究では、富山県内企業の持つマイクロ加工技術と微小空間酸素センサーを組み合わせることで、安価に非侵襲で、かつ連続的に受精卵の非侵襲品質評価を実施できるデバイスを開発するという目的で以下の実験を行った。

課題 1 マイクロ加工技術を用いた非侵襲受精卵品質測定デバイスの開発

富山大学大学院理工学研究部(工学) 電気電子システム工学・鈴木正康教授に指導を仰ぎ、また富山県農林水産総合技術センター畜産研究所、富山県内のマイクロ加工技術を得意とする A 社と連携し、酸素センサーとなる化合物 (ルテニウム錯体) をコートした受精卵 1 個にぴったりなマイクロウェルを作製し、その酸素濃度の差を検出することで、個別の受精卵の呼吸活性を非侵襲で簡単に測定できるデバイスの開発を目指す。

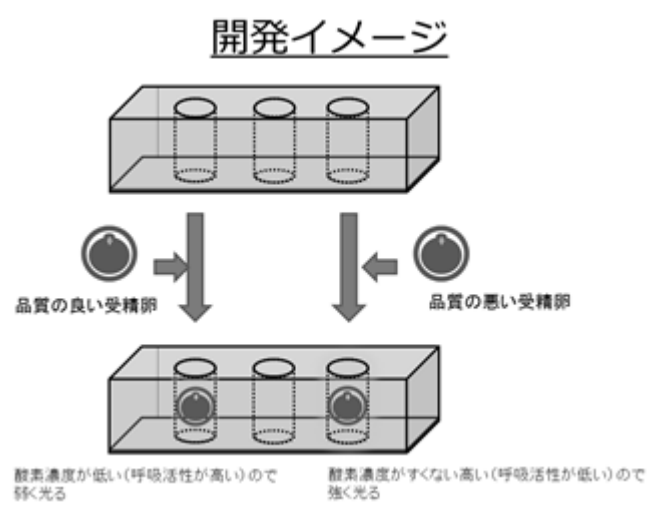
課題 2 開発技術で選別した高品質受精卵の胚盤胞形成率向上効果の検証

実際に① 課題 1 で開発したマイクロ加工デバイスを使用し、マウス受精卵を使って、受精卵呼吸量の変化を検出できるかどうかを確かめる。次に、② 呼吸量の多い (=蛍光量の低い) マウス受精卵と、呼吸量の少ない (=蛍光量の高い) マウス受精卵をそれぞれ偽妊娠誘導した仮親の母胎に戻し、それぞれの着床率および産子率を測定することで、開発技術を使うことで受精卵が受胎する確率を向上することが出来たかどうかを検証する。

成果要約

課題1 マイクロ加工技術を用いた非侵襲受精卵品質測定デバイスの開発

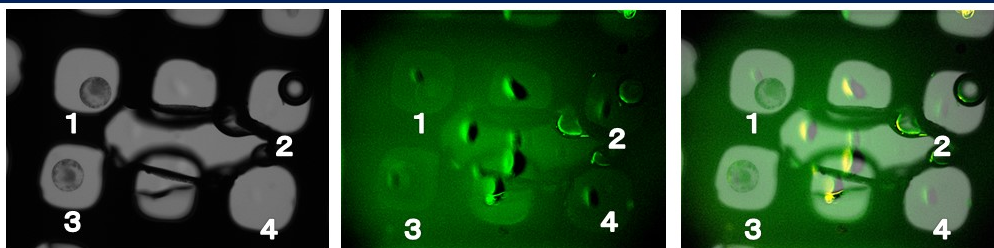
受精卵が1個だけびったりはまる形状の非侵襲品質測定デバイスについて、金型を作製し、射出成型で試作機を製造した。詳細な実機については、今後、特許化などの展開を考えている（下図は模式図）。



課題2 開発技術で選別した高品質受精卵の胚盤胞形成率向上効果の検証

模擬受精卵としてグルコースオキシダーゼを固定化したビーズで実験を行ったところ、蛍光強度の変化を確認でき、酸素センサーとして使えることが分かった。また実際にウシ受精卵を使った試験でもその有用性が確認できた（下図）。現在、開発協力企業と特許化に向けて協議中である。

ウシ体外受精卵の呼吸活性計測の試み



透過光画像

蛍光画像

透過光+蛍光

試料: 牛の体外受精卵
(牛胚盤胞)

測定: 倒立蛍光位相差顕微鏡
(Ex.450-490nm, Em.500-550nm)

受精卵有: ウェル1, 3

受精卵無: ウェル2, 4

ウェル番号	1	2	3	4
蛍光強度(a.u.)	33.3	14.9	40.4	15.4

受精卵の有無で蛍光強度に
違いが出る事を確認

<p>研究成果 発表状況</p>	<p>【雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況】</p> <p>現在、富山県内企業一社および富山県と共同で製品化にむけて協議中であり、特許化についても協議中である。</p>		
<p>経費の 執行状況</p>	<p style="text-align: center;">区 分</p> <p>【物品費】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 試薬 ・ マウス <p>【旅費】</p> <p>【謝金】</p> <p>【その他】</p> <p style="text-align: right;">合計</p>	<p style="text-align: center;">執行額 (円)</p> <p style="text-align: right;">775,246</p> <p style="text-align: right;">74,754</p> <p style="text-align: right;">850,000 円</p>	<p style="text-align: center;">備 考</p>