Japan Society of Obstetrics and Gynecology

P―199 リコンビナント透明帯タンパクのヒト精子機能検査への応用

兵庫医大
井上みゆき、長谷川昭子、内藤子来、香山 浩二

【目的】capacitationを起こした精子は、卵表面の透明帯成分(ZP3)と結合(primary binding)することにより、先体反応を誘起され、透明帯に進入可能となる。次に精子は透明帯との結合(secondary binding)を維持しつつ、アクロシン等の酵素の作用と自らの運動性で透明帯を貫通する。我々は以前より、透明帯成分ZP1が先体反応誘起精子とのみ反応することから、この成分がsecondary bindingに関与することを示してきた。本研究では、ZP1の精子への結合性を調べ、従来報告されている精子機能検査との比較を行った。【方法】ZP1としては、ブタZP1のアミノ末端側198アミノ酸に対応するリコンビナントタンパクr-pZP1を用いた。精子はBWW培養液中で充分前培養した後、イオノフォアA23187で先体反応を誘起した。10μg/mlのr-pZP1を先体反応精子に添加後、0.5、2、4、6、18時間で精子を固定し、r-pZP1と特異的に反応するモノクローナル抗体を用いて蛍光抗体法により陽性率を測定した。【成績】正常精液所見を示す精子において、先体反応後、r-pZP1と反応する精子の割合は、培養時間の経過と共に5%から90%に増加した。またr-pZP1の精子への結合部位が時間と共に赤道面から後帽部および尾部へと移行した。【結論】本実験で用いたpZP1は透明帯の成分であるので、従来のレクチンを用いた先体反応評価法より、生物学的に意味のある精子機能検査法となる可能性がある。またr-pZP1の精子上での結合部位が移動することは、精子の透明帯進入に非常に都合のよい現象であり、今後この結合に与かる精子側の分子を追求することにより、受精メカニズムの解明に役立てたいと考えている。

P―200 マウス卵細胞質内精子注入法における卵細胞内カルシウムイオン画像解析

順天堂大，東女医大 第2生理学*
中野義宏，佐藤雄一，豊成由佳，淡路正則，
武内裕之，三橋直樹，桑原慶紀，
白川英樹*，宮崎俊一*

【目的】受精時の卵細胞内カルシウムイオン(Ca)濃度の上昇は普遍的に卵活性化の必須因子である．ヒトをはじめ哺乳動物卵では反復性Ca増加(Ca振動)が起こり，前核形成への関与が示唆されている．一方，細胞質内精子注入法(ICSI)が新しい不妊治療として注目されている．我々は注入された精子の卵活性化機構の解明を目的とし，Ca画像解析を行った．【方法】予めCa感受性蛍光色素fura2を取り込ませたddyマウスの成熟卵(n=5)に精子1個を吸い込んだ micropipette を piezo micromanipulator を用いて刺入し，注入した後，Ca画像解析装置(Argus 100)を用いてCa増加反応を経時的に記録した．さらに共焦点レーザー走査顕微鏡(Zeiss LSM310)を用い，Calcium Green を指示薬として，Ca増加の卵細胞内分布を解析した．受精卵は翌日まで培養し，前核形成と卵割の有無を観察した．【結果】精子注入直後に5～10分の一過性のCa濃度の上昇を認めたが，これは培養液のみの注入でも起こった．精子注入後30分以内に1回目のCa反応(ピーク約800nM，持続3～4分)が発生した．その後やや小さく短いCa反応が約10分間隔で規則的に起こり，数時間持続した．このCa振動パターンは，通常の方法による体外受精の卵での記録と同様であった．ICSIでのCa増加は精子付近で高く，遠ざかるにつれ低下した．【結論】ICSIにおいても，Ca増加反応が通常の体外受精の場合と同様の機構で起こり，卵活性化と前核形成に必要であることが明らかになった．また，注入された精子付近のCa増加が大きいことから，精子から何らかの卵活性物質が放出されている可能性が示唆された．

NII-Electronic Library Service