

2019年4月26日

再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点  
平成30年度共同研究報告書

京都大学ウイルス・再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：熊本大学生命資源研究・支援センター

職名：講師

氏名：竹尾 透

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：受精能獲得精子選別による In vitro 単精子受精法の開発
2. ウイルス・再生医科学研究所共同研究者： 渡邊仁美
3. 研究期間：平成30年4月1日～平成31年3月31日
4. 研究経過及び研究成果：

現在の体外受精技術では、1個の卵子を受精させるために大量の精子が必要であるため、受精効率を高める技術の開発が求められている。これまでに申請者は、環状オリゴ糖であるシクロデキストリンが精子の受精能獲得（精子が受精可能な状態）を誘導し、体外受精における受精率の向上に有用であることを見出している。また、還元型グルタチオンが、卵子の透明帯中ジスルフィド結合を切断し、精子侵入効率を高めることも明らかにしている。しかしながら、これらの技術を組み合わせても、依然として受精効率が低い場合も存在し、さらなる技術改良が必要である。一般的に、生体内の受精では、卵管に到達する精子が少数であるにも関わらず、高率で受精が成立する。申請者は、受精効率の向上の糸口として、雌性生殖道内で行われている受精能獲得精子の選別に着目し、受精効率と精子選別の関係について検討を進めている。本研究では、物率的刺激に脆弱である精子の運動性を維持したまま回収できる精子選別システムの開発、生体内における精子選別を模倣する受精能獲得精子選別法の開発および精子選別技術を活用した体外受精技術の開発を試みた。精子選別システムの開発では、マイクロ流体チップ・セルソーターを用いることで、運動性を維持したまま精子の選別が可能であった。また、

選別した精子は、体外受精における受精能を維持していた。次に、受精能獲得精子の選別では、受精能獲得マーカーを用いて精子選別を行い、受精能獲得マーカー陽性および陰性精子の分取に成功した。次に、本技術を用いた体外受精法により、受精能獲得マーカー陽性精子の方が、受精能獲得マーカー陰性精子に比べて、高い受精率を示すことが明らかになった。また、本体外受精技術で作製した受精卵は、胚移植により産子へと発生することも確認した。以上、本知見は、精子選別におけるマイクロ流体チップ・セルソーターの有用性を示すと共に、受精能獲得精子の選別が受精率の向上に有効であることが明らかになった。

最後に、本研究をご支援頂きました京都大学ウイルス・再生医科学研究所（再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点）の共同利用・共同研究事業および関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。

## 5. 研究成果の公表

### 【学会発表】

1. 中尾聡宏、竹尾 透、渡邊仁美、近藤 玄、中潟直己  
マイクロ流体チップ・セルソーターを用いた精子選別に関する技術開発  
第 37 回動物生殖工学研究会、2018 年 12 月 1 日
2. 中尾 聡宏、竹尾 透、渡邊 仁美、近藤 玄、中潟 直己  
マイクロ流路チップ・セルソーターを用いたマウス受精能獲得精子選別システムの開発  
第 111 回日本繁殖生物学会、2018 年 9 月 13 日
3. 中尾聡宏、竹尾 透、渡邊仁美、近藤 玄、中潟直己  
マイクロ流体チップ・セルソーターによる受精能獲得精子分離法の開発  
第 65 回日本実験動物学会、2018 年 5 月 16 日

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表、特許取得等

### ●研究所ホームページおよび年報への掲載について

本報告書を研究所ホームページおよび年報（2020 年発行）に掲載いたしますので、特許申請その他の理由で公表不可の研究成果がありましたらご記入ください。

例）・特許申請中につき報告書の掲載不可（研究課題名の掲載は可）

研究所 HP（共同研究報告書）：<http://www.infront.kyoto-u.ac.jp/saisei-kyoten/hokokusho/>