

補助事業番号 2023M-397

補助事業名 2023年度 高品質な受精卵作出を実現する和牛用精子スクリーニングチップの開発補助事業

補助事業者名 百武 徹

1 研究の概要

飼料高騰や受胎率低下により繁殖農家の経営が悪化している中、本事業では、高品質な受精卵の作出を実現する精子スクリーニングチップを研究開発することで、和牛受胎率の向上とそれによる繁殖農家の活性化を目指す。

2 研究の目的と背景

近年、ロシアによるウクライナ侵攻や円安などの影響で、肥育に欠かせない飼料価格が高騰しており、本邦の繁殖農家の経営は非常に厳しい状況に置かれている。加えて近年、繁殖雌牛の受胎率が、1989年度の66%から2017年度には52%まで低下しており、大きな社会的課題となっている。受胎率低下による雌牛の空胎日数延長は、繁殖農家にとって大きな収益損失となり、経営基盤を揺るがす死活問題となる。そこで本事業では、受精に適した高運動性の精子を選別可能なチップを開発し、高い受胎性を持つ高品質な受精卵を多数作出できる技術の確立を目指す。また、家畜人工授精師への聞き取り調査を通じて現場で使いやすいチップ形状を提案し、さらに受精卵移植による受胎率を調査することで、本チップの有効性を実証することを目的とする。

3 研究内容

(1)精子スクリーニングチップの開発

フォトリソグラフィおよびソフトリソグラフィ技術を用いて、生体適合性の高いPDMS樹脂製の精

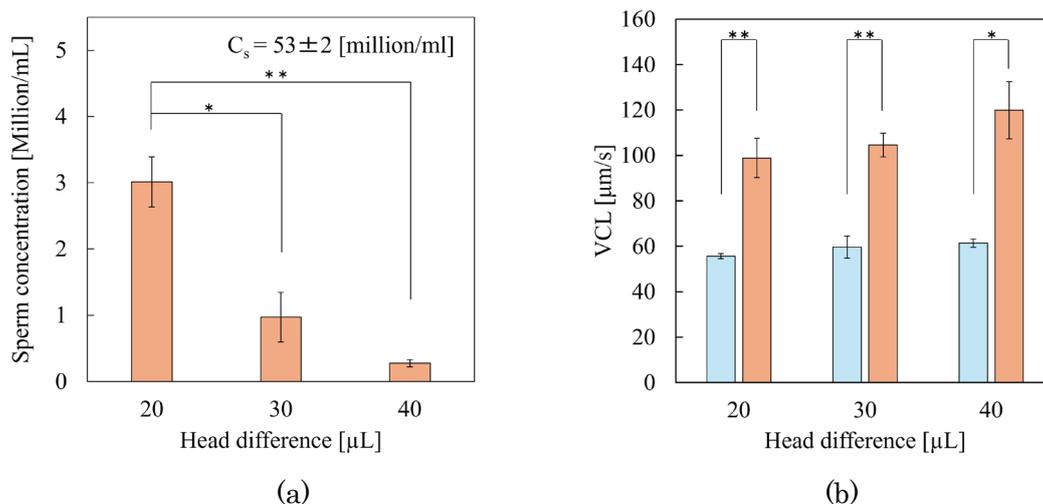


Fig. 1 Comparison of water head differences for (a) sperm concentration and (b) sperm velocity

子スクリーニングチップを製作した。チップ内に設けられた精液槽と回収槽は、卵管内を模擬したマイクロ流路によって接続されている。ここで、チップの親水性を長時間維持するため、製作時に親水化剤を添加した。ウシ精子は家畜改良事業団前橋種雄牛センターより購入したストロー状の凍結ウシ精液0.5 mLを38.5 °Cの恒温槽にて融解して使用した。回収槽と精液槽の液量差により流路内に流れを発生させることで、精子特有の走性である走流性と走触性を利用して高運動性の精子を回収することが可能となる。

図1(a)は水頭差の違いによる回収精子濃度の比較である。ここで、精液槽の精子濃度を C_S で示している。測定回数は3回である。回収精子濃度について、水頭差が増加すると回収精子濃度は減少した。これは、水頭差が大きくなると流路内流速が大きくなり、遡上できる精子が減少したことが要因であると考えられる。図1(b)は水頭差の違いによる精子速度の比較である。水色が精液槽の精子速度、オレンジ色が回収槽の精子速度を示している。図より、精液槽に比べ回収槽の精子速度の方が大きく、高運動性の精子を回収できていることが分かる。

(1)体外受精による評価

次に、精子スクリーニングチップより回収された精子を用いて実際の体外受精を実施した。図2に体外受精の評価結果を示す。ここで、黒色が従来の密度勾配遠心法によって分離された精子を用いた場合（精子濃度 250 万個/mL）、赤色が本チップを用いた場合（精子濃度 54 万個/mL）である。実験の結果、従来の密度勾配遠心法を用いた体外受精より本チップの卵割率は低かったものの、凍結可能胚率は同程度となり、密度勾配遠心法の代替法としての有用性を示すことができた。現状の機構では、回収槽の精子濃度が低いため、今後は流路構造を最適化することで回収精子濃度を増加させ、卵割率を上昇させることができれば、より付加価値の高い体外受精用チップとなるだろう。

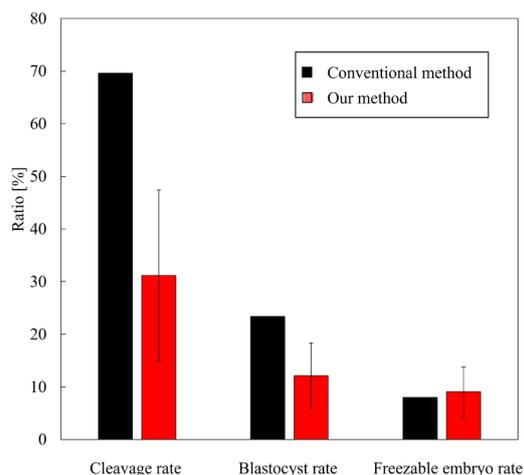


Fig. 2 Evaluation results of in vitro fertilization

4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本邦における体外受精による受精卵移植は現在、子牛生産の約10%を占めており、その割合は年々増加している。本事業によって高品質な受精卵の作出と高い受胎率を実現すれば、この傾向はさらに加速し、体外受精の市場規模拡大と繁殖農家の活性化が期待される。さらに、北米や南米では体外受精由来の子牛が生産の約半数を占めており、本チップの海外展開により、国内の数十倍に及ぶ経済効果も見込まれる。加えて、本事業で得られた知見を生殖補助医療に応用することで、不妊治療への貢献も期待される。

5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

補助事業者はこれまで、生体関連の流体力学、とりわけマイクロスケールにおける流れに関する研究に注力してきた。近年は、哺乳類精子の特徴的な遊泳特性に着目し、その挙動を流体力学的観点から解明してきた実績がある。本事業は、そうした知見を基盤として、高受胎性に寄与する精子を効率的に選別できる精子スクリーニングチップの研究開発に展開するものであり、これまでの研究の延長線上にある応用的かつ実践的な取り組みとして位置づけられる。

6 本研究にかかわる知財・発表論文等

【学会発表】

- (1) 佐藤駿介, 百武徹, ”非ニュートン流体中における精子の集団遊泳に関する実験的研究”, 第35回バイオエンジニアリング講演会, 2023.6.3-4
- (2) Toru Hyakutake and Daisuke Higashiyama, “Predicting sperm motion in microfluidic channels with sperm swimming model”, 2023 BMES Annual Meeting, 2023.10.11-14.
- (3) 百武徹, ”受精環境を模したレオロジー流体中における精子の運動特性”, 2023年度生物流体研究集会「生物流体力学における境界の役割」2023.10.25-27
- (4) 土屋知香, 東山大介, 百武徹, ”精子遊泳モデルを用いたマイクロ流路内の精子運動予測”, 第36回バイオエンジニアリング講演会, 2024.5.11-12
- (5) 遠藤純平, 百武徹, ”非ニュートン流体中における精子の集団遊泳に関する実験的研究”, 第36回バイオエンジニアリング講演会, 2024.5.11-12
- (6) 遠藤純平, 百武徹, ” Shear thinning流体中における精子の集団遊泳に関するIn vitro実験”, 第35回バイオフロンティア講演会, 2024.12.14-15
- (7) 土屋知香, 東山大介, 百武徹, ”精子遊泳モデルを用いたマイクロ流路内の精子運動予測”, 第35回バイオフロンティア講演会, 2024.12.14-15

【投稿論文】

Toru Hyakutake, Daisuke Higashiyama, Tomoka Tsuchiya, "Prediction of sperm motion behavior in microfluidic channel using sperm swimming model", Journal of Biomechanics, Vol.176, 112336, 2024.

【特許】

特願2023-205929, 運動性精子選別デバイス, 及び運動性精子の選別方法, 百武徹, 安井学, 三田正弘, 大日方壘, 塚原隼人

7 補助事業に係る成果物

- (1) 補助事業により作成したもの

該当なし

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

該当なし

8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名： 横浜国立大学工学研究院(ヨコハマコクリツダイガクコウガクケンキュウイン)

住 所: 〒240-8501

横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5

担 当 者: 教授 百武徹 (ヒヤクタケトオル)

担 当 部 署: システムの創生部門 機械工学システムコース (システムノソウセイブモンキカイコウガクシステムコース)

E - m a i l: hyaku@ynu. ac. jp

U R L: <http://www.hyakulab.ynu.ac.jp/>