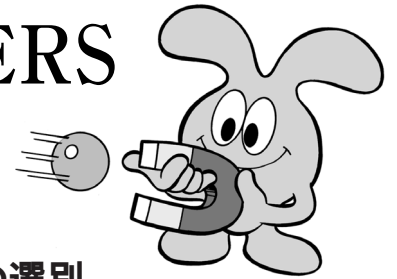


DYNABEADS LETTERS



抗精子抗体とDynabeads を用いた受精可能精子の選別

大阪大学微生物病研究所 感染動物実験施設
岡部 勝

1. はじめに

精子は射精された時には受精能を有しておらず、雌性の生殖路内で、生理的变化 (capacitation) を起こし、続いて先体部分の膜が剥がれ落ち先体内容物を放出し (acrosome reaction) 受精可能となる。ヒトでは一度に何億もの精子が放出されるが、受精可能となるものはそのうちの一部で、しかも、各人ごとに受精能獲得に要する時間は異なっている。受精可能精子に特異的に結合するモノクローナル抗体 MH61 と Dynabeads を用いて受精可能精子を測定する方法について紹介する。

2. 用意するもの

ヒト先体反応精子に特異的に結合するモノクローナル抗体 MH 61 (IgG₁)¹⁾

Dynabeads (M-450 sheep anti - mouse IgG₁ (Fc)): Cat. No. 11003

Bovine Serum Albumin (Fr. V) : Sigma. Chem. Cat. No. A6793

New Born Calf Serum : Flow Laboratories Cat. No. 29-121-49

スキムミルク : 雪印スキムミルク (脱脂粉乳)

精子培養液 BWW

リン酸緩衝液 (PBS)

1) BWW 組成 (1 L)

NaCl 4.910 g, KCl 0.356 g, CaCl₂ · 2H₂O 0.251 g, KH₂PO₄ 0.162 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.294 g,

Na - Pyruvate 0.028 g, Na - Lactate (60 %) 4.027 g, Glucose 1.000 g, Phenol Red 400 µg,

Penicillin 50000 IU, Streptomycin 0.05g (力価), NaHCO₃ 3.000 g, Bovine Serum Albumin 35.00 g

2) PBS の組成 (1 L) (NaN₃ 添加)

NaCl 8.0 g, KCl 0.2 g, Na₂HPO₄ · 12H₂O 2.9 g, KH₂PO₄ 0.2 g, NaN₃ 0.2 g

3. MH 61 - ビーズの作製

DynabeadsTM M - 450 sheep anti-mouse IgG₁(Fc) (4 × 10⁸個/ml) の 2 ml に 5% のスキムミルク - PBS を 2 ml 加え、よく混ぜながら、2 時間室温で反応させ、非特異的な結合サイトをブロックした。5% NBCS -PBS で洗浄後、ビーズを 2 ml の PBS に懸濁し、2 ml の MH 61 腹水を加え、37 °C で 1 時間震盪させながら、Fc 部分をビーズに結合させた。洗浄後、5% NBCS -PBS に 4 × 10⁸個/ml になるよう懸濁し、4 °C で保存した(図 1)。

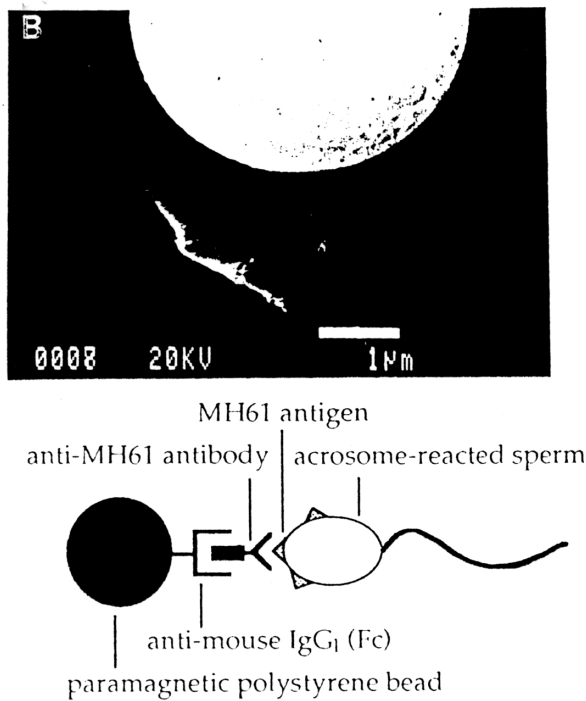


図1. Preparation of MH61-bead

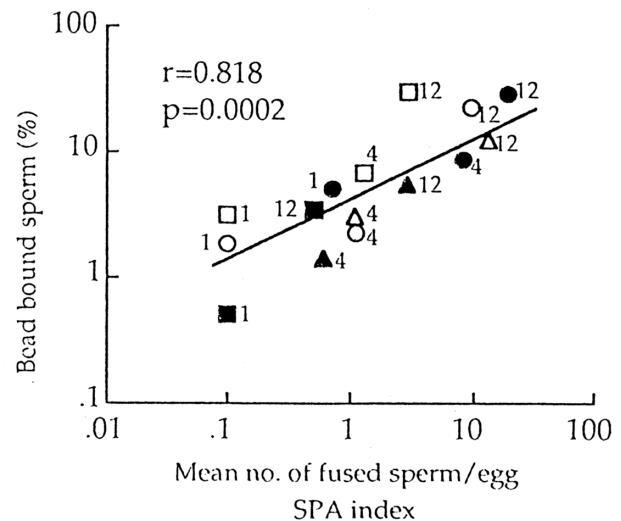


図2. The SPA scores of the same ejaculates were observed three times (1, 4, and 24 hours after preincubation), together with the bead binding ability. Different plot shapes represent the various donors. Numbers beside each plot show the preincubation time. All donors conceived a child within 3 years.

4. 結果

ヒト精子をBWW下で preincubation しビーズを加えた。先体反応精子が特異的にビーズに結合した。ビーズへの結合性は経時的に変化した。この変化はハムスター裸卵を用いて測定した精子の受精能とよく相関した (図2) 2, 3)。

参考文献

- 1) Okabe, M., Nagira, M., Kawai, Y., Matzno, S., Mimura, T., and Mayumi, T. A human sperm antigen possibly involved in binding and/or fusion with zona - free hamster eggs. *Fertil. Steril.*, 54, 1121 - 6, (1990)
- 2) Okabe, M., Matzno, S., Nagira, M., Ying, X., Kohama, Y., and Mimura, T. Collection of acrosome - reacted human sperm using monoclonal antibody - coated paramagnetic beads. *Mol. Reprod. Develop.*, 32, 389 - 93, (1992)
- 3) Ohashi, K., Saji, F., Kato, M., Okabe, M., Mimura, T., Tanizawa, O. Evaluation of acrosomal status using MH 61 - beads test and its clinical Application. *Fertil. Steril.*, 58, 803 - 8, (1992)

お問合せは 日本総代理店

株式会社

ベリタス

〒105-0001 東京都港区虎ノ門 2-7-14 八洲ビル
TEL 03 3593-3211 代 1 FAX 03 3593-3216