

CDA-1000 による精子測定

1. はじめに

精液検査は不妊症の診断において重要な検査であり、なかでも精子数の計測は主要な検査項目のひとつである。また、精子数の減少は、化学物質に曝露した動物実験でも雄性生殖系への影響を表す良い指標となるため、精子数の評価は生殖毒性学の研究においても重要視されている。精子数の計測には粒子計数分析装置を用いた方法がよく知られている。^{1),2)}

ここでは、粒子計数分析装置 CDA-1000 (以 CDA) を用いた精子測定法について紹介する。

参考文献

- 1)大村実 他 福岡医誌 1997;88:294-297
- 2)K.Tayama et al. Reproductive Toxicology 2006;22:92-101

2. 試料

ラットの凍結精子を用いた。

液体窒素から取り出した凍結精子を温水中で溶解してストローから取り出し、セルパックで適正濃度 (10^4 /mL程度) に調整したものを測定対象とした。

3. 装置条件

- アパチャー : $100 \mu\text{m}$
- X 軸 : 粒子径
- 分析量 : $500 \mu\text{L}$

4. 結果

精子試料を測定したところ、図 1 に示すように明瞭な粒度分布を得た。また、直線性 (図 2-1)、再現性 (表 1) とともに良好な結果を示したことから、測定可能と考える。

4-1 分布図

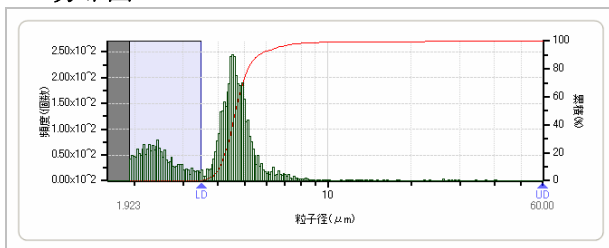


図 1 粒度分布

4.5 μm 付近にピークを持つ明瞭な粒度分布を得た。CDA が精子を的確に捉えた結果と考える。

項目名	値	単位
分析容積	500.000	μL
粒子濃度	8.54×10^3	/mL
カウント数	4162	個
平均粒子径	4.913	μm
粒子径SD	1.812	μm
粒子径CV	36.87	%
モード径	4.499	μm
分布幅(50%)	0.964	μm
10%	4.078	μm
25%	4.335	μm
50%	4.633	μm
75%	5.021	μm
90%	5.633	μm
< 4.016 μm	7.54	%
< 4.497 μm	37.87	%
< 4.966 μm	72.20	%
< 5.969 μm	92.60	%

図 1-2 測定・解析結果

測定結果画面には、粒度分布のほか、上図のような各データが表示される。ふるい設定 (< μm)、積算分率 (%) は任意の値に設定可能である。

4-2 直線性

濃度 $2.5 \times 10^3 \sim 7.4 \times 10^4$ /mL のデータを示す。

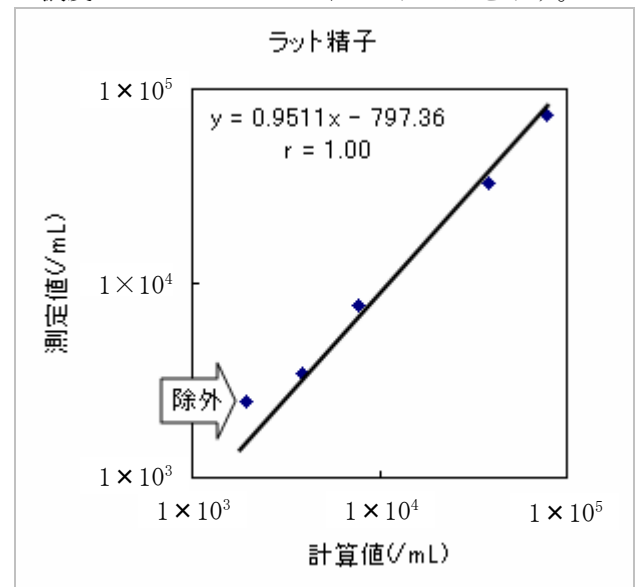


図 2-1 直線性グラフ (対数表示)

2.5×10^3 /mL の値を示した試料のデータが、直線性を外れた (上図矢印)。このデータを除いて算出した回帰直線、相関係数は良好な結果を示した。このことから、測定試料は、 $5 \times 10^3 \sim 7 \times 10^4$ /mL 程度に調整すればよいことがわかる。

*) 推奨濃度範囲について

リアルタイム表示画面〔濃度表示〕の数値が2000を超えない濃度を意味する。

濃度表示が2000を超えると同時通過の影響を受けやすくなる。

今回、測定に用いた試料の場合、 7×10^4 /mL以上で2000を超えた。

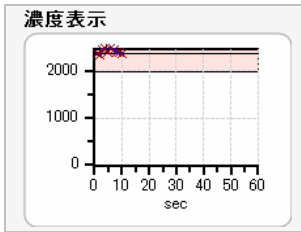


図 2-2 濃度表示画面 (例)

測定試料の粒度分布を示す。(縦軸の最大値は自動調整)

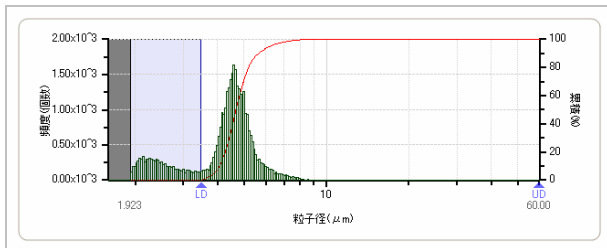


図 2-3 7.4×10^4 /mL (50 倍希釈)

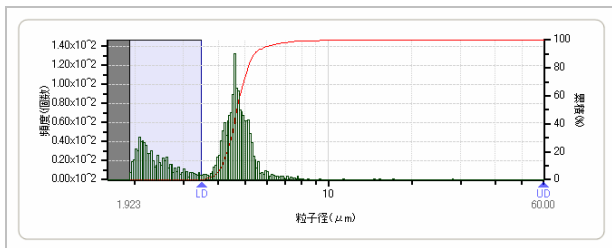


図 2-4 3.4×10^3 /mL (1000 倍希釈)

4-3 再現性

7×10^3 /mL程度の試料を用いて再現性を確認した。

希釈した状態で試料を放置すると debris (精子の分布よりも左側の分布)が増加し、正しい粒度分布が得られなくなるため、測定ごとに希釈試料を調製し測定した。

表 1 ラット精子の再現性

	濃度 ($\times 10^3$ /mL)
1	7.14
2	8.54
3	7.10
4	6.64
5	7.84
平均	7.45
CV	10.0%

5. ウシの場合

ウシの凍結精子を用いて測定した結果を示す。装置条件はラット精子と同じ。

解凍した保存精子をストローから取り出し、適正濃度となるようにセルパック中に浮遊させてから測定した。

その結果、 $4 \mu\text{m}$ 付近にピークを持つ明瞭な粒度分布 (図 3) を得たこと、また、直線性 (図 4)、再現性 (表 2) が良好な結果であったことから、ウシの精子が測定可能と推察する。

5-1 分布図

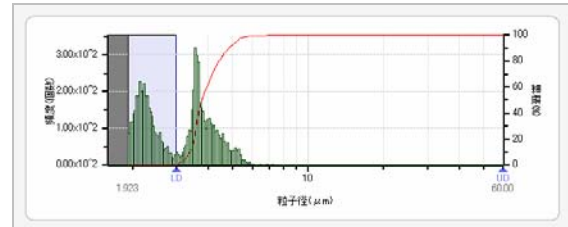


図 3 ウシ精子測定結果

5-2 直線性

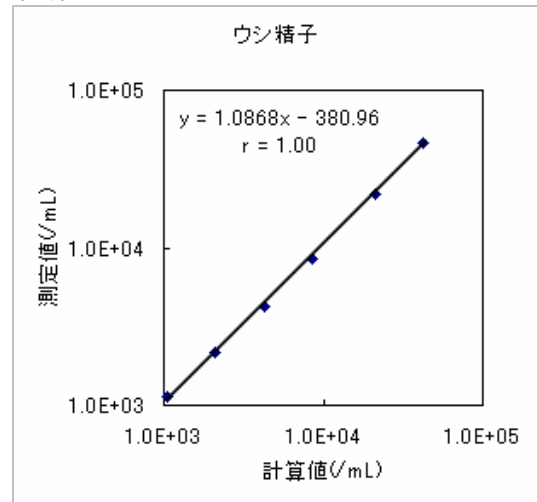


図 4 直線性グラフ

上記グラフから、測定試料は、 $1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$ /mL程度に調整すればよいことがわかる。

5-3 再現性

表 2 ウシ精子の再現性

	濃度 ($\times 10^3$ /mL)
1	8.39
2	8.29
3	8.63
4	8.51
5	8.37
平均	8.43
CV	1.6%

ラットの場合よりも良好な CV%を示した。保存状態、精子形状など各種条件が影響していると思われる。

発行 : シスメックス株式会社 科学計測事業部

〒651-2271 神戸市西区高塚台 4 丁目 4 番地の 4

Tel. (078) 991-2091 Fax (078) 997-9976

URL : <http://www.sysmex.co.jp/labscience/>

Published by : SYSEM CORPORATION SCIENTIFIC INSTRUMENTATION BUSINESS DIV.

Copyright © 2010 by SYSEM CORPORATION

No part of this publication may be reproduced without the prior the written permission of the publisher.

Printed in Japan.

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。