

「全自動受精卵呼吸測定装置の試作」業務

調達日程（企画競争）

○業務期間 平成 25 年 10 月（契約日）～平成 25 年 12 月 27 日

○調達日程

1. 公告日 平成 25 年 8 月 26 日
2. 説明会(原則開催) 平成 25 年 8 月 29 日 16:00～
3. 提案書締め切り 平成 25 年 9 月 9 日
4. 審査期間 平成 25 年 9 月 10 日～平成 25 年 9 月 12 日
5. 審査結果報告 平成 25 年 9 月 13 日
6. 仕様書作成 平成 25 年 9 月 17 日～平成 25 年 9 月 27 日
7. 契約請求書提出 平成 25 年 9 月 30 日

平成 25 年 8 月 12 日

企画競争手続請求書

調達室長 殿

医学部・医学系研究科  
事務長 齋藤 嘉信

業務名 「全自動受精卵呼吸測定装置の開発」業務

上記業務に係る企画競争手続を請求しますので、よろしくお取り計らい願います。

記

1. 企画競争方式を採用する理由

東北大学医学系研究科では現在、厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）平成 25 年度採択課題の 1 つとして、「受精卵呼吸測定装置を用いた臨床試験に橋渡しするための安全性および有用性に関する研究」に関する研究開発（代表者：宇都宮裕貴、以下「本プロジェクト」とする）を実施しており、その課題の 1 つとして新しい受精卵呼吸測定装置の開発に取り組んでいる。

本プロジェクトは受精卵呼吸測定装置としての妥当性検証が目的であり、本業務で実施する機器開発・改良自体は本学が担当する研究開発の範疇には入らない。そのため、機器開発・改良の目的に最も合う提案を採択するため、企画競争を実施する。

2. 添付書類

- ① 募集公告（案）
- ② 募集要領（案）
- ③ 調達日程（案）

# 企画競争説明会

平成25年9月10日  
研究代表者 宇都宮 裕貴

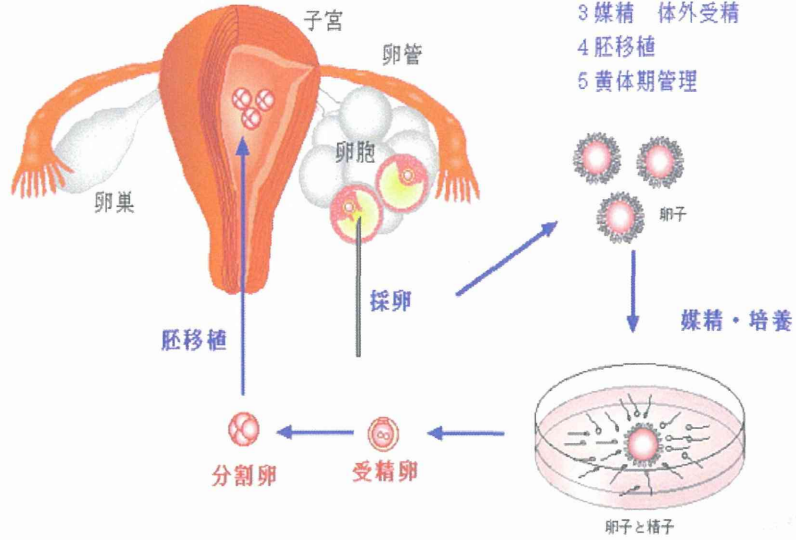
## 生殖補助技術による出生児数の 年次別推移(日本産婦人科学会)



# 体外受精-胚移植の流れ

In Vitro Fertilization - Embryo Transfer (IVF-ET)

- 1 卵巣刺激
- 2 採卵
- 3 媒精 体外受精
- 4 胚移植
- 5 黄体期管理



©Charuto-shinabô co.ltd

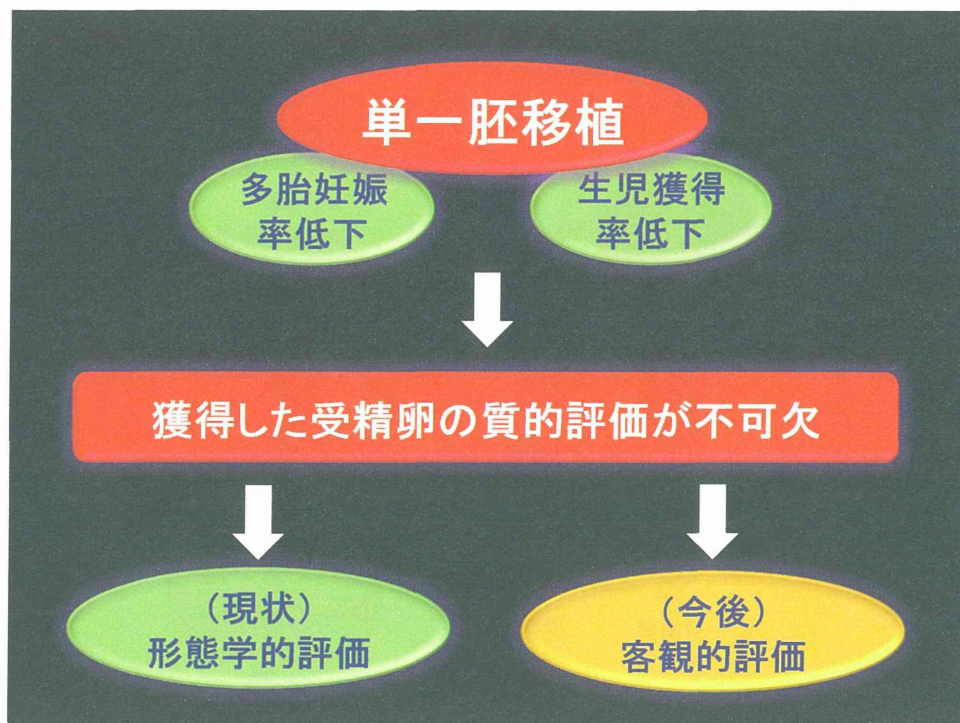
## 不妊治療の現状 ～課題～

近年、生殖補助技術の普及に伴い多胎妊娠率の上昇が大きな問題となってきた

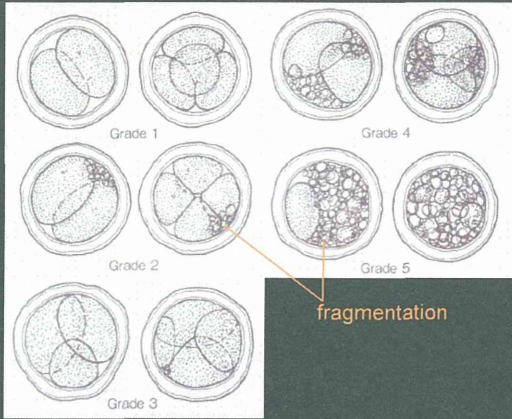
妊 娠 合 併 症 出生児

**単一胚移植**

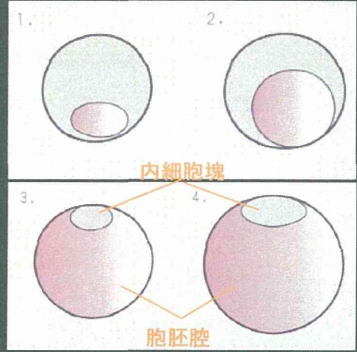
2008年4月 日本産婦人科学会  
生殖補助医療における多胎妊娠防止に関する見解



### 受精卵の形態的クオリティー評価

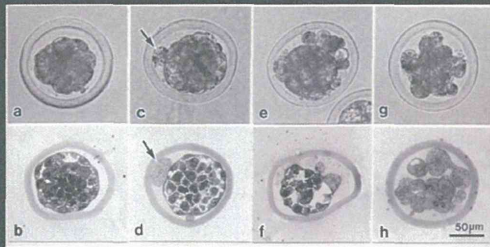


**Veekの分類(分割胚)**  
割球の状態とフラグメンテーションにより Grade1(良好胚)~5(不良胚)に分類される。



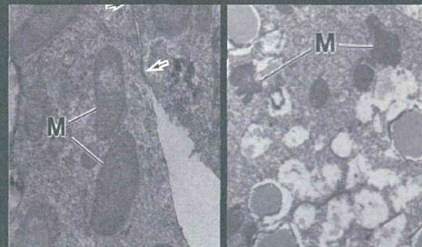
**Gardnerの分類(胚盤胞)**  
胞胚腔の大きさ(1~6)、内細胞塊の細胞数(A~C)、外細胞層の細胞数(A~C)の3点で評価している。

## ウシ受精卵の質的評価とミトコンドリア



A rank B rank C rank D rank

High quality Low quality



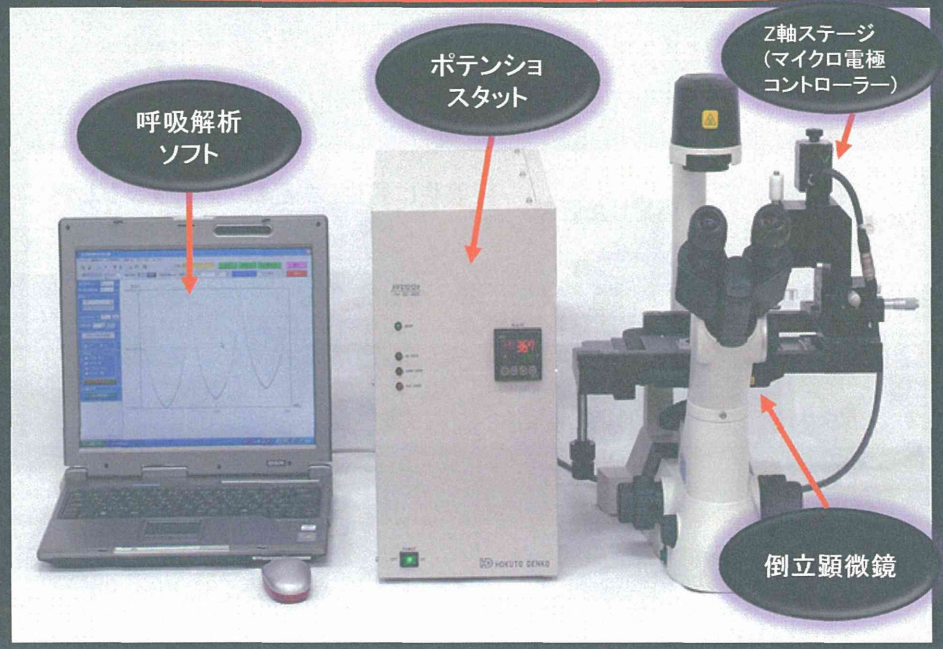
クオリティー良好卵  
ミトコンドリア(M)のサイズの増加やクリステの拡張がみられる。

クオリティー不良卵  
ミトコンドリアは未熟な形態を呈している。

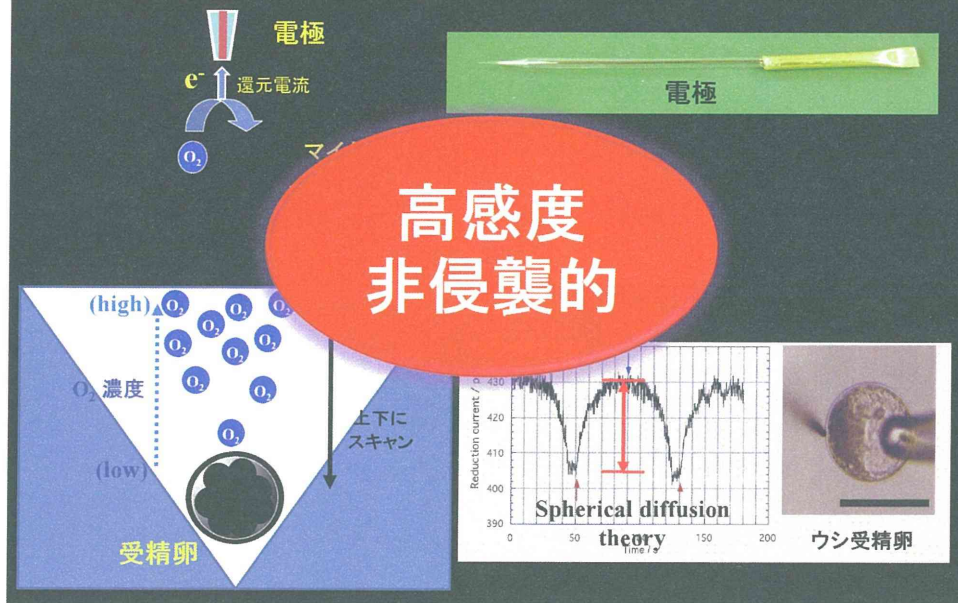
ミトコンドリアの発達と受精卵の質は相関する  
⇒ 良好卵は酸素消費(=呼吸)量大きい

Abe et al. Theriogenology, 2002

## 受精卵呼吸測定装置



## 機器の原理



## ウシ体外受精卵の呼吸量と発生能

| 呼吸量<br>( $F \times 10^{14} / \text{mol s}^{-1}$ ) | 測定した胚数 | 胚盤胞に発生した胚数<br>(%) | ハッチングした<br>胚盤胞数(%) |
|---|--------|-------------------|--------------------|
| $F \geq 1.0$                                      | 56     | 50(89.3)          | 35(62.5)           |
| $0.8 \leq F \leq 1.0$                             | 44     | 34(77.3)          | 20(50.0)           |
| $F < 0.8$   | 107    | 49(45.8)          | 28(26.2)           |

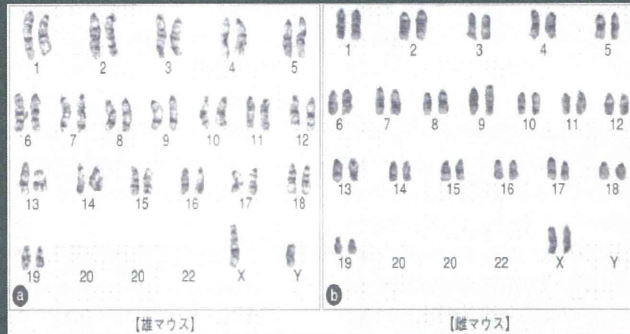
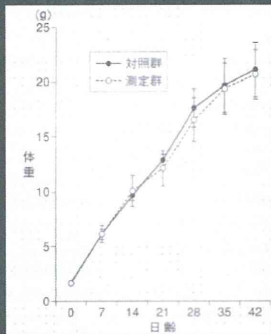
呼吸量が高い受精卵の方が発生能が高い

Abe et al. J. Mamm. Ova Res., 2004

## マウス胚移植試験の成績

| 実験区          | 受容雌 (雌) | 移植胚数 (個) | 移植胚の平均呼吸量 ( $\times 10^{-4}$ ) | 分娩した受容雌 (匹) | 分娩率 (%)       | 産子数 (匹) | 産子率 (%)        |
|--------------|---------|----------|--------------------------------|-------------|---------------|---------|----------------|
| 測定群 (0.70以上) | 16      | 170      | $0.85 \pm 0.01$                | 12          | 12/16* (75.0) | 67      | 67/170* (39.4) |
| 対照群          | 18      | 175      | -                              | 7           | 7/18 (38.9)   | 41      | 41/175 (23.4)  |

\* $P < 0.05$

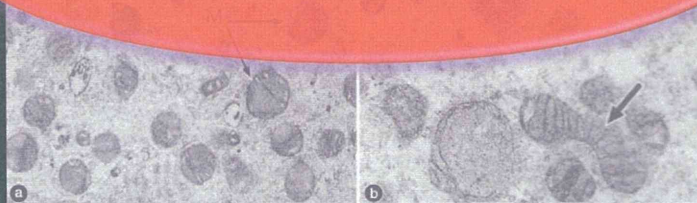


## ヒト胚の呼吸量測定とミトコンドリアの発達

| 胚発生ステージ | 測定胚数 | 酸素消費量 ( $\times 10^{14}/\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ) |
|---------|------|---|
| 2~8細胞   | 18   | $0.51 \pm 0.05^a$   |
| 桑実胚     | 5    | $0.61 \pm 0.11^{ab}$                                      |
| 初期胚盤胞   | 13   | $0.72 \pm 0.06^b$   |
| 胚盤胞     | 4    | $1.00 \pm 0.19^c$   |

ヒト受精卵においても異符号間有意差 ( $p < 0.05$ ) あり







呼吸量はミトコンドリアの発達を反映する



- a 2細胞期胚。未成熟な形態のミトコンドリア (M)
- b 胚盤胞期胚。拡張したクリステ構造を持つ発達したミトコンドリア (矢印)



## ヒト受精卵における形態的評価と呼吸量

|  |   |   |   |   |  |   |
|--|---|---|---|---|--|---|
| Morphology of embryos  |  |  |  |  |  |  |
| Classification by Veeck method   | 4-cell Grade 1  | 4-cell Grade 1  | 6-cell Grade 2  | 6-cell Grade 2  | 8-cell Grade 2   | 8-cell Grade 2  |
| Oxygen consumption ( $F \times 10^{14}/\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ) | 0.25  | 0.44  | 0.57  | 0.23  | 0.71   | 0.35  |

形態的評価と受精卵呼吸量は必ずしも一致しない

*Utsunomiya et al. J Mamm Ova Res, 2008*

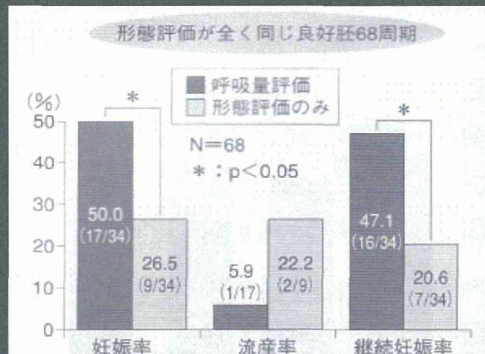
## ヒト受精卵における臨床研究①



形態学的に同程度の受精卵

| 評価方法             | 患者数 | 妊娠率(%)  |
|------------------|-----|---------|
| 形態学的評価<br>+呼吸量測定 | 14  | 9(64.3) |
| 形態学的評価のみ         | 18  | 7(38.9) |

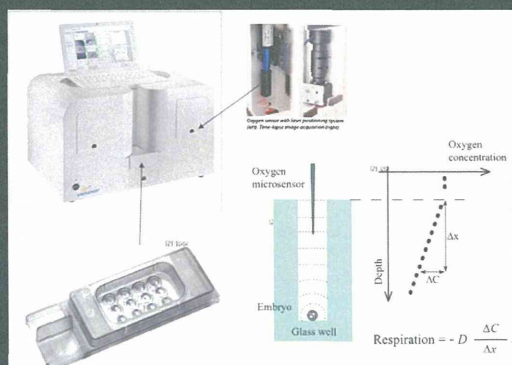
## ヒト受精卵における臨床研究②



- 呼吸量評価を行った群での出産例における平均出生体重は2906g、形態評価のみの群の2720gと有意差はなかった。
- 呼吸量評価群においても健常な出生を確認した。

## 世界での開発状況

### Spain & Denmark 合同チーム



### 北米・アジアなどでは報告なし

## 胚細胞呼吸測定装置研究会

| 回数   | 期日         | 開催地 |
|------|------------|-----|
| 第1回  | 2010.10.13 | 仙台  |
| 第2回  | 2011.2.4   | 仙台  |
| 第3回  | 2011.6.5   | 弘前  |
| 第4回  | 2011.9.25  | 秋田  |
| 第5回  | 2012.6.16  | 秋田  |
| 第6回  | 2012.7.14  | 仙台  |
| 第7回  | 2012.9.9   | 山形  |
| 第8回  | 2013.3.3   | 仙台  |
| 第9回  | 2013.6.8   | 山形  |
| 第10回 | 2013.9.7   | 旭川  |

## 現状における問題点

困難な操作手法  
機器の自動化  
一般診療への普及  
高価な電極

# 機器の自動化

① chamberの開発

② 電極移動の自動化

① chamberの開発      ② 電極移動の自動化

長所

- ・培養器中で測定可能
- ・手技が非常に容易
- ・開発が容易
- ・解析方法が既に確立
- ・手技が容易

短所

- ・開発に高度な技術力
- ・新たな評価方法の確立
- ・従来型と同様に培養器外で測定

## 機器開発における必須要件

従来型と比較して同等以上の

操作性

再現性

安全性

経済性

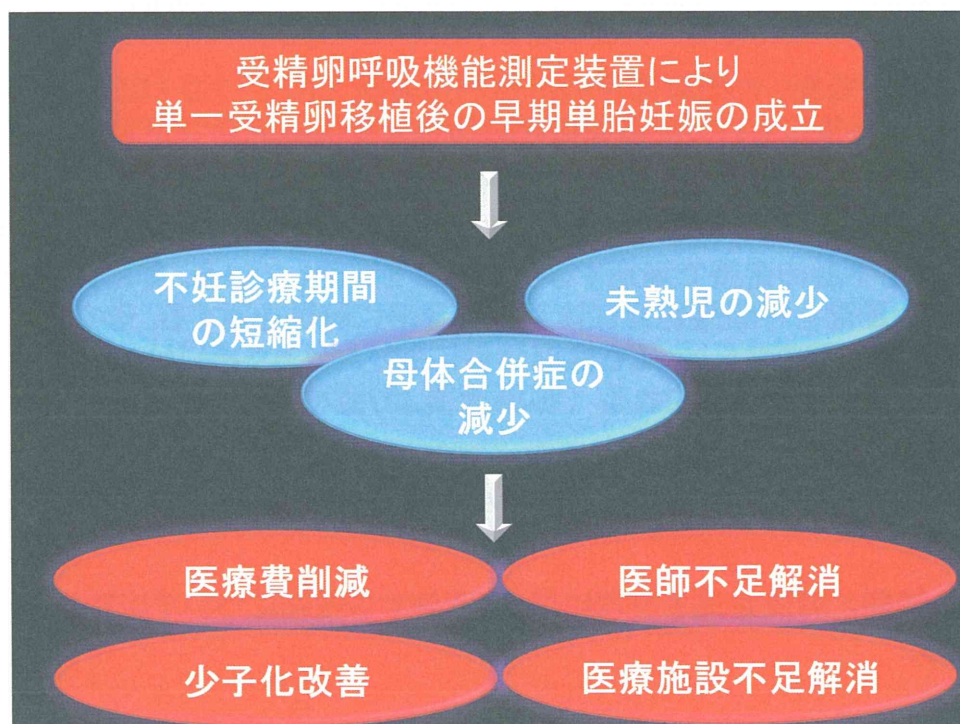
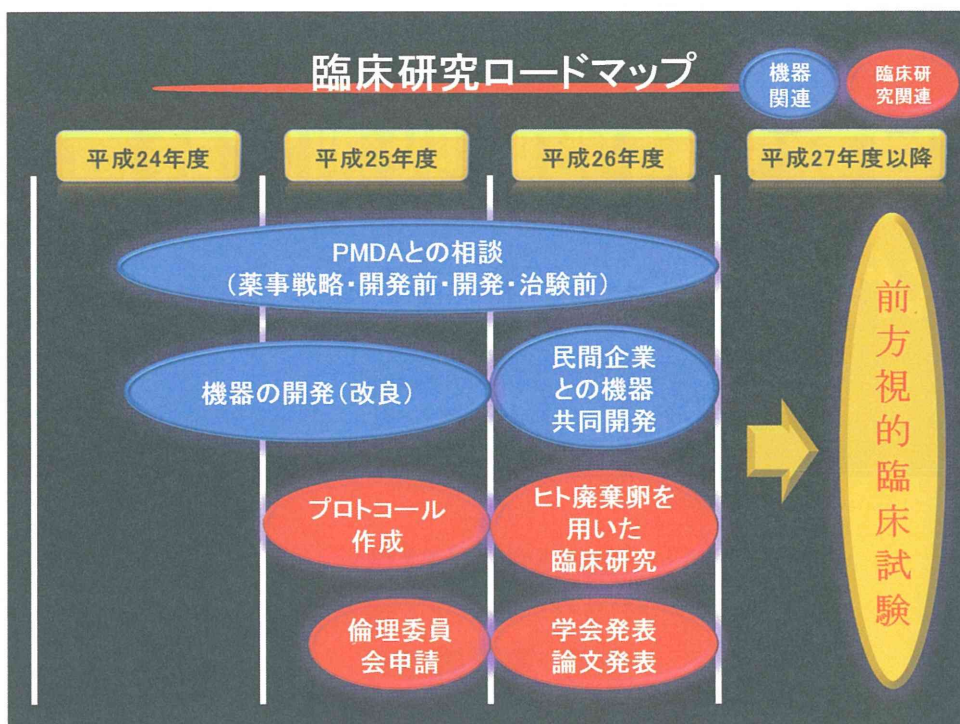
## 本研究の目的

機器を自動化

培養器内での測定



ヒト余剰卵による有用性・安全性を検討



国立大学法人 東北大学 御中

# 全自動受精卵呼吸測定装置の 試作機器改良業務のご提案 企画提案書

2013年9月17日

パナソニックヘルスケア株式会社  
臨床・事業開発室



Panasonic

1

## 1. 企画競争 業務の内容、提案の目的 1/3

クリノ株式会社が開発した受精卵呼吸活性測定装置 CRAS-1.0（以下「従来機器」という）は、不妊治療において受精卵の呼吸活性を非侵襲的かつ定量的に測定し母体に戻す受精卵を選択するために使用する機器である。

従来機器は、呼吸活性を測定する方法として針式のマイクロプローブを受精卵の近傍に近付けて上下動の走査で測定する手動方法を採用している。非常に高感度で侵襲もないが、正確な呼吸量測定には手技の習得に時間を要する。そのため、従来機器の有用性が証明できたとしても標準診療に取り入れるためにはハードルが高く、普及の妨げになることが予想される（募集要領より抜粋）。

本提案では、従来機器の非常に高感度で侵襲の無い先進性を維持しつつ、正確な手技の習得に時間を要するという改良すべき課題を解決する改良を提案、実現を目指す。

改良すべき課題と解決方法を次項に示し、実施する業務について以降に具体的提案を説明する。

Panasonic

2

## 1. 企画競争 業務の内容、提案の目的 2/3

### 【改良すべき課題】

マイクロプローブを受精卵の近傍に近づける手技の簡便化実現

### 【解決方法】

- ① 受精卵を静置する構造を有し、受精卵近傍から遠位へ複数の電極を配置したチップ型電極により、マイクロプローブの手技を廃止する。
- ② ①のチップ型電極は、Pt(白金)を電極とし、受精卵を培養する液中に暴露する材質には酸化シリコンを始めとする生体適合材料により構築する。
- ③ ①のチップ型電極は、医療現場もしくは提供メーカーにおいて滅菌処理可能な生体適合材料で構築する。
- ④ ①のチップ型電極は、受精卵の成長に悪影響を与えず、臨床現場で入手、合成可能な培養液中で測定できるものとする。
- ⑤ ①のチップ型電極は、生殖補助医療の現場で実用できる価格帯で入手可能な価格帯を実現する、②に示す生体適合材料により構築する。(従来機器の価格:5万円前後に対し半額以下を実現可能な生体適合材料により構築する)。

Panasonic

3

## 1. 企画競争 業務の内容、提案の目的 3/3

- ⑥ ①のチップ型電極を用いた測定に要する時間は、受精卵を測定液中に静置後、通電から測定終了までを3分以内を目標とする。
- ⑦ ①のチップ型電極による測定電流は、銀塩化銀参照電極に対し10mmol/L フェロセン中で30nA(3.00E-8)以下とする。
- ⑧ 酸素消費測定時の顕微鏡観察を不要とし、培養器中での測定可能性を示す。

以上①～⑧の項目を実現することにより、募集要領で示された要件、

- ① 受精卵検査に伴い用いられる微弱電流が、従来機器と同等かそれ以下であること。
- ② 受精卵の呼吸測定感度が、従来機器と同様かそれ以上であること。
- ③ 従来機器で受精卵を測定する際に用いるディスポーザブル極細プローブは、非常に高価である。しかも機器の操作性が悪いため、プローブを破損する可能性がある。  
→ 従来のプローブと比較して価格が低廉であり、且つ耐久性に勝ること。
- ④ 従来機器と比較して、受精卵測定時の初期設定が簡便かつセットが容易であり、操作性に優れ、初心者でも高い再現性を得ることが可能で、全自動化を実現することにより検査時間の短縮を図るものであること。

の実現を目指す。

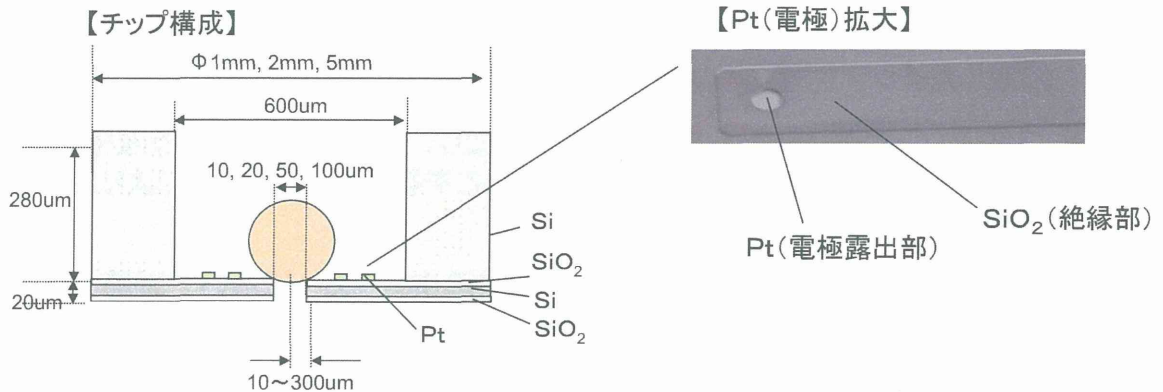
Panasonic

4



## 2. 業務実施方法 1/4

### ① 受精卵を静置する構造を有し、受精卵近傍から遠位へ複数の電極を配置したチップ型電極を試作する



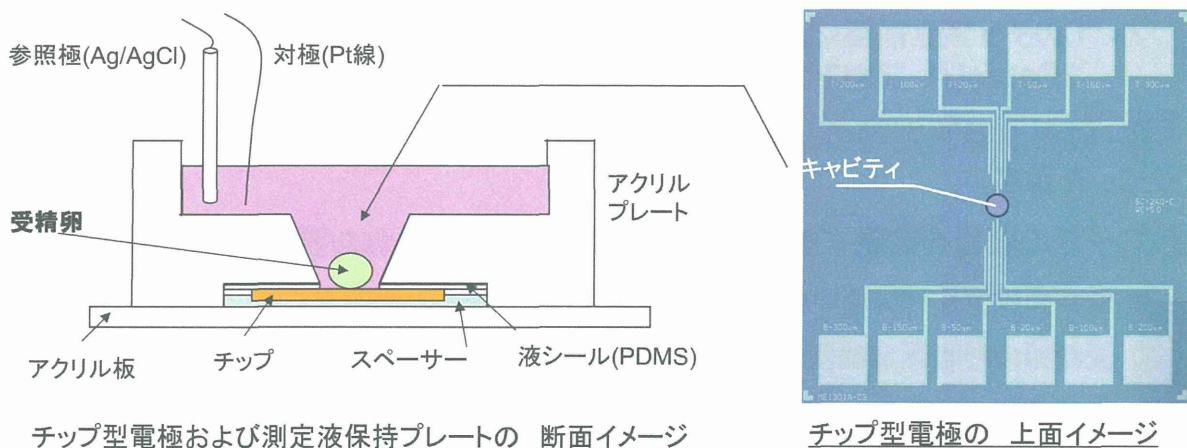
- ・滅菌を可能とし、生体適合材料である、電極部にPt(白金)、絶縁部、ベースの基板にシリコン材質を用い、チップ型電極を試作する。
- ・半導体技術を応用し、μオーダーで受精卵からの正確な距離で電極を配置をする。
- ・量産時に臨床現場へ安価に提供できる技術で開発する。

Panasonic

5

## 2. 業務実施方法 2/4

### ② ①で試作したチップ型電極を組み込んだプレートの試作



チップ型電極および測定液保持プレートの 断面イメージ

チップ型電極の 上面イメージ

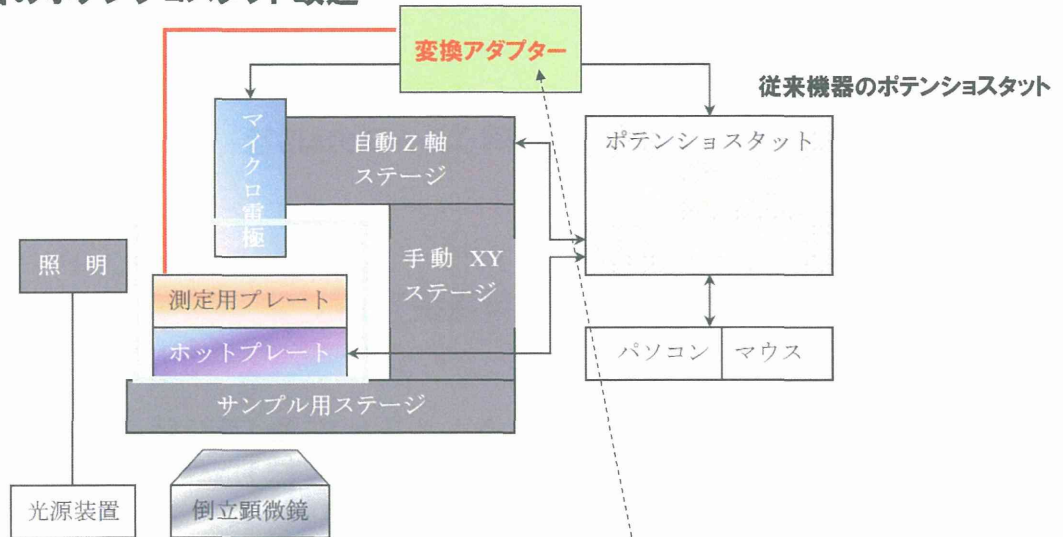
- ・滅菌を可能とする生体適合材料でプレートを構成する。
- ・受精卵もしくは評価に適した生体材料による酸素消費速度、量を評価可能とする。

Panasonic

6

## 2. 業務実施方法 3/4

### ③ 従来機器のポテンシostat改造



- ・従来機器のポテンシostatとマイクロプローブ間に、**変換アダプター**を開発、挿入し、マイクロプローブに代わってチップ型電極による測定を可能とする。
- ・従来機器のソフトウェア改造により、チップ型電極による酸素消費計算を可能とする。

Panasonic

7

## 2. 業務実施方法 4/4

### ④ 前項①, ②の試作物の評価

| 試作   | 評価   |
|--|--|
| ①チップ型電極試作<br>・構造設計／プロセス開発<br>・試作                       | ・顕微鏡観察、評価  |
| ②プレート試作<br>・構造決定<br>・試作                                | ・低濃度メディエータCV、CA測定<br>・溶存酸素還元電流測定<br>・メディエータ選択での課題抽出<br>・電気化学測定<br>・生体での酸素消費量評価 |
| ③ポテンシostat改造<br>・マイクロプローブ、チップ型電極変換アダプター試作<br>酸素消費計算式開発 | ・チップ型電極、プレートの試作品による測定<br>・マイクロプローブ、チップ型電極比較                                    |

Panasonic

8

### 3. 業務実施体制 1/2

①チップ型電極試作

②プレート試作

・パナソニックヘルスケア(株)及び同グループのAIS社

③ポテンシオスタット改造

・パナソニックヘルスケア(株)

(クリノ株式会社より従来機器情報提供)

④評価

・チップ型電極

パナソニックヘルスケア(株)及び同グループのAIS社

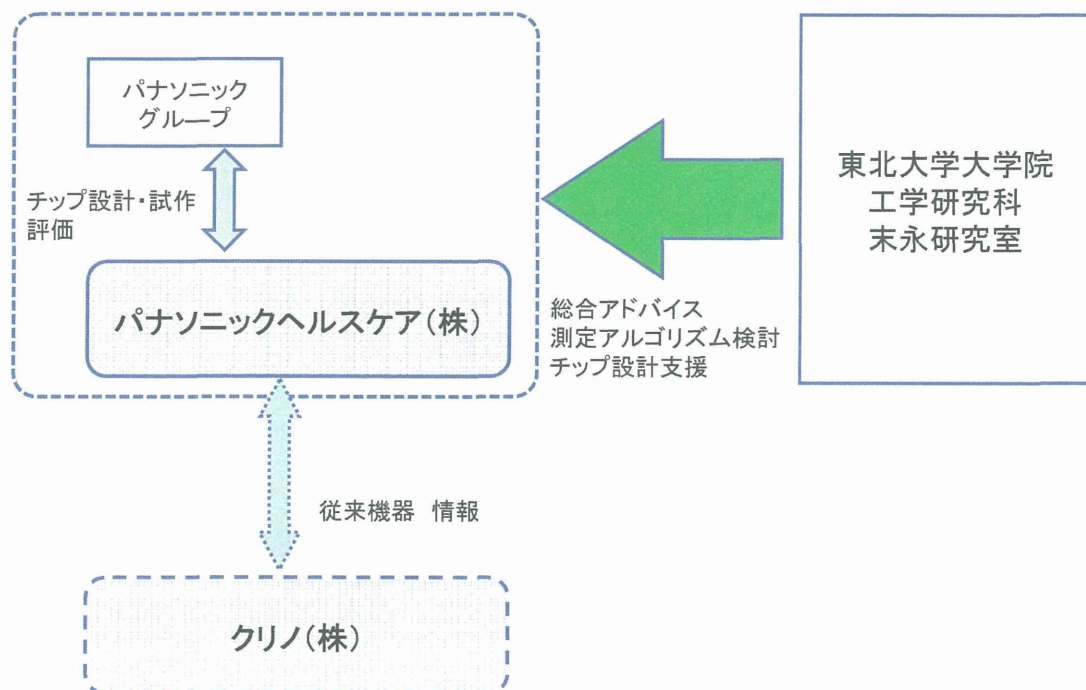
・ポテンシオスタット

パナソニックヘルスケア(株)

・全体及び測定アルゴリズム検討、チップ設計支援

東北大学 末永研究室

### 3. 業務実施体制 2/2



## 4. 業務実施スケジュール

|                     | 10月<br>(中旬) | 10月<br>(下旬) | 11月<br>(月上旬) | 12月<br>(月上旬) | 12月<br>(下旬) | 1月<br>(月上旬) | 1月<br>(中旬) |
|---------------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|------------|
| チップ型電極試作            | →           |             | →            | →            |             |             |            |
| チップ型電極評価            |             | →           |              |              |             |             |            |
| プレート試作              | →           |             |              |              |             |             |            |
| プレート評価(チップ型電極組み込み型) |             |             | →            | →            |             |             |            |
| ポテンシオスタット改造         |             |             |              |              | →           | →           |            |
| 総合評価・報告書作成          |             |             |              |              |             |             | →          |

※チップ型電極試作は2回を想定

Panasonic

11

## 5. 概算見積書

国立大学法人東北大学 御中

平成25年 9月 17日

パナソニック ヘルスケア(株)  
〒791-0395 愛媛県東温市南方2131番地1  
TEL (089) 966-1620  
取引銀行 三井住友銀行・大阪本店営業部(当座) 2012753

|      |            |
|------|------------|
| 見積金額 | ¥8,994,978 |
|------|------------|



| 月日   | 摘要  | 数量  | 単価          | 金額        | 備考 |
|------|---|-----|-------------|-----------|----|
| 9/17 | マスク設計、材料費   | 2   | 225,000.0   | 450,000   |    |
|      | ウエハ(SOI)  | 10  | 40,000.0    | 400,000   |    |
|      | ターゲット(金)  | 1   | 500,000.0   | 500,000   |    |
|      | ウエハ加工費用   | 1   | 1,000,000.0 | 1,000,000 |    |
|      | その他消耗品、管理費  | 3ヶ月 | 1,125,000.0 | 1,125,000 |    |
|      | クリノ社装置改造費   | 1   | 200,000.0   | 200,000   |    |
|      | クリノ社ソフト改造費  | 1   | 2,000,000.0 | 2,000,000 |    |
|      | 人件費(41.8%実労 2名)<br>(85.5万円×3月=2,565,000円、132.7×3月=3,981,000円)×41.8% | 3ヶ月 | 2,736,228.0 | 2,736,228 |    |
|      | 出張旅費(消費税込)  |     | 300,000.0   | 300,000   |    |
|      | 値引き   |     |             |           |    |
|      | (小計)  |     |             | 8,711,228 |    |
|      | (上記見合の消費税等)   |     |             | 283,750   |    |
|      | (合計)  |     |             | 8,994,978 |    |

上記の通りお見積もり申し上げます。

Panasonic

12