

・ 総括研究報告書

**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**

主任研究者 宇都宮裕貴(東北大学医学部准教授)

I. 総括研究報告

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） 総括研究報告書

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

研究代表者 宇都宮 裕貴 東北大学准教授

研究要旨

近年、晩婚化や出産希望年齢の上昇に伴い生殖医療の需要は著しく増加している。しかしながら、多胎妊娠による母体合併症や低出生体重児の増加が大きな社会問題となり、生殖補助医療における多胎妊娠防止のため原則として単一受精卵（胚）を移植することが提唱された。しかしながら、法的な拘束力はないため、未だ症例によっては複数個の移植が行われているのが実情である。また、2013年8月に不妊治療助成に年齢および回数制限が追加されることが決定し、今後は着床能の高い優良な受精卵を選別し妊娠率を向上させることが一層重要となった。そこで平成24年度より現行機器の操作性および測定精度の向上を目的に新しいデバイスを開発し、その操作性・安全性および有用性の検討を行ってきた。

まず平成24年度の早期段階でPMDAとの薬事戦略相談（事前面談）を行った。その後、チップの試作品開発をパナソニック・ヘルスケア社、電気化学的検証を北斗電工社、そしてチップ開発の統括をクリノ社と共に行い試作品を完成させた。

その後、平成25年度も継続してパナソニック・ヘルスケア社と試作品の改良を行い、最終的に臨床研究に使用するチップを完成し、操作性や耐久性などを検討した。そして、平成26年度に行う臨床研究（ヒト余剰卵を用いた受精卵呼吸量測定）のプロトコールを作成し、平成26年2月に東北大学倫理委員会の承認を得た。また、共同研究施設とともに臨床研究に使用する余剰卵の蓄積・管理を行った。さらにPMDAと薬事法の必要性に関する打ち合わせを行い、生殖医療における医療機器としての役割を詰めていく予定である。

今後、全ての共同研究施設で倫理委員会の承認を取得した後に、今年度開発したチップによるヒト余剰卵を用いた臨床研究を実施し、その有用性・安全性および操作性を検討する。また、それに先行する前臨床研究として、マウス受精卵を従来の形態学的評価のみの群と開発機器を用いた呼吸量測定併用群に分け、胚移植から胎仔出産まで観察し本チップの有用性と有害事象の有無を検討する。さらに、将来的な前方視的臨床試験に向けた大量生産をふまえて、パナソニック・ヘルスケア社と機器の試作および仕様の決定を目指す。

分担研究者

寺田幸弘（秋田大学医学部教授）
阿部宏之（山形大学理工学部教授）
高橋俊文（山形大学医学部講師）
福井淳史（弘前大学医学部講師）
菅沼亮太（福島県立医科大学講師）
志賀尚美（東北大学医学部助教）

A・研究目的

近年、生殖医療の需要は著しく増加しているが、多胎妊娠による母体合併症や低出生体重児の増加が大きな社会問題となり、現在は単一受精卵移植が原則となった。さらに、2013年8月に不妊治療助成に年齢および回数制限が追加されることが決定し、今後は着床能の高い優良な受精卵を選別し妊娠率を向上させることが一層重要になった。

我々はこれまでに受精卵の呼吸機能と卵品質が相関することに着目し、その有用性・安全性を報告してきた。しかしながら、現行機器を用いた正確な呼吸量測定には手技習得に多大な時間を要するため、標準診療に取り入れるにはハードルが高く、普及の妨げになっている。そこで、現行機器の操作性および測定精度の向上を目的に新しいデバイスを開発し、その操作性・安全性および有用性の検討を下記の手順で遂行している。これまでに受精卵の呼吸機能と卵品質が相関することに着目し、研究分担者の阿部らはその有用性を報告してきた（1-7）。この手法は非常に高感度である上に侵襲もない画期的な装置と考えられている。しかしながら、現行機器を用いた正確な呼吸量測定には手技習得に多大な時間を要するため、標準診療に取り入れる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。そのため、まず平成24年度にPMDA

との薬事戦略相談を行った。その後、チップ開発に対してパナソニック・ヘルスケア社を中心に試作品を完成させた。そして平成25年度には、試作品の現行機器の操作性および測定精度の一層の向上を目的に、改良デバイスの開発を行うことを目的とした。また、それと並行して、平成26年度に行うヒト余剰卵を用いた受精卵呼吸量測定を目的とした臨床研究のプロトコルを作成し、倫理委員会の承認を得るための準備を行った。さらに、共同研究施設とともに平成26年度の臨床研究に使用する余剰卵の蓄積およびその管理を進めていくことも行った。

- (1) Yamanaka M, Abe H, et al. Prediction for developmental competence of human blastocyst based on its oxygen consumption. *Fertil Steril*. 26:3366-71. 2011
- (2) Yamanaka M, Abe H, et al. Developmental assessment of human vitrified-warmed blastocysts based on oxygen consumption. *Hum Reprod*. 26:3366-71. 2011
- (3) Date Y, Abe H, et al. Monitoring oxygen consumption of single mouse embryos using an integrated electrochemical microdevice. *Biosens Bioelectron*. 15;30:100-6. 2011
- (4) Yoshida H., Abe H, et al. Quality evaluation of IVM embryo and imprinting genes of IVM babies. *J Assit Reprod Genet* 30:221-5. 2013
- (5) Kumasako Y, Abe H, et al. Respiration activity of single blastocysts measured by scanning electrochemical microscopy: The relationship between pre-freezing and post-warming. *J Mamm Ova Res* 30:30-5. 2013
- (6) Abe H. Quality evaluation of oocytes and embryos with highly sensitive and non-invasive technique for measuring cellular respiration with a scanning electrochemical microscopy. *Jpn. J. Embryo Transfer* 35: 7-14. 2013
- (7) Abe H. A non-invasive and sensitive method for measuring cellular respiration with scanning electrochemical microscopy to evaluate embryo quality. *J Mamm Ova Res*. 24:70-8. 2007

B・研究方法

新規開発デバイスを用いて正確な呼吸量を測定し、一般診療において容易に取り入れられるように研究を遂行した。また、平成26年度に行うヒト余剰卵を用いた受精卵呼吸量測定を目的とした臨床研究プロトコール作成および倫理委員会申請を進めた。さらに、平成26年度の臨床研究に使用する余剰卵の蓄積およびその管理を行った。

定期的な会議を開催し、新規デバイス開発や今後の研究計画などを検討した。また、機器開発に際し企画競争説明会を行い、採択企業を選定した。

1. 平成25年6月8日（仙台）
第9回胚細胞呼吸測定装置研究会
（第3回厚生労働省班会議）（資料1）
2. 平成25年9月2日（TV会議）
第4回デバイス開発会議（資料2）
3. 平成25年9月8日（旭川）
第10回胚細胞呼吸測定装置研究会
（第4回厚生労働省班会議）（資料3）
4. 平成25年9月10日（仙台）
企画競争説明会（資料4）
5. 平成25年12月10日（TV会議）
第5回デバイス開発会議（資料5）
6. 平成26年1月21日（仙台）
開発機器納品（資料6）
7. 平成26年3月2日（仙台）
第11回胚細胞呼吸測定装置研究会
（第5回厚生労働省班会議）（資料7）

平成26年度に行うヒト余剰卵を用いた臨床研究プロトコール作成および倫理委員会申請

今回、開発した機器を用いたプロトコールを作成し、東北大学倫理委員会の承認を取得する。その後、他の4大学病院においても同様に各施設における倫理委員会承認を取得する。

余剰卵の蓄積およびその管理

各研究協力機関において、平成26年度の臨床研究に向けヒト余剰卵の集積及び管理を行う。

PMDAとの開発相談

今後の開発機器に関して、薬事法に基づく医療機器として開発するか、従来機器と同様に薬事法を介さない測定機器として開発するか相談した。

C・研究結果

定期的に会議を開催し様々な専門家との打ち合わせを行い、新しい機器開発に関する手法や意義、問題点、有害性などの検討を進めた。

1. 平成25年6月8日（仙台）
第9回胚細胞呼吸測定装置研究会
（第3回厚生労働省班会議）（資料1）

東北5大学病院の生殖医療担当医と山形大学阿部宏之、クリノ社が集まり機器開発業況や培養条件の設定、現状における問題点などに関して班会議を開催した。従来機器を用いた研究に比較し、新規開発デバイスによる問題点が提示され、現行機器からの改良事項や要望などが議論された。また、今後の研究に使用する余剰卵の集積・管理法などに関する検討も併せて行った。

2. 平成25年9月2日(TV会議)
第4回デバイス開発会議(資料2)

機器開発に関連するパナソニック・オートモーティブ&インダストリアルシステムズ社、パナソニック・ヘルスケア社と共に、今後の開発計画の打ち合わせを行った。

従来の開発機器をさらに改良し、チップ構造の設計/プロセス開発、プレート実装、電気化学測定プロトコール開発、生体における酸素消費量評価などに関して議論した。そして、開発機器によるスフェロイド(乳癌細胞株:MCF-7)を用いた計測を行い、距離依存性の酸素消費量が得られていることを確認した。しかしながら、酸素濃度勾配や電極間の特性ばらつきが十分でなく引き続き検討を行っていくことを確認した。

3. 平成25年9月8日(旭川)
第10回胚細胞呼吸測定装置研究会
(第4回厚生労働省班会議)(資料3)

東北5大学病院の生殖医療担当医と山形大学の阿部宏之、東北大学臨床研究推進センターの藤原義明、クリノ社が集まりパナソニック社が開発している機器に関して、培養条件の設定や現状における問題点などに関して検討した。サイクリック・ボルトアンメトリー(CV)波形の異常や測定感度の低下が認められることがあり、その原因の解明などについても議論した。また、現行機器からの改良事項や要望なども併せて議論された。

4. 平成25年9月10日(仙台)
企画競争説明会(資料4)

昨年度の試作機器は湿潤環境において全自動で測定が可能となり、今後の一般診療への普及を見据えた有望な試作品となった。しかしながら、反復使用に

よる測定精度の低下や最適な培養環境の確立など、未だ多くの課題を抱えており、直ちに臨床研究に用いることはできないと考えた。そこで、この試作品を改良し、より高精度で操作性の向上した安価な装置の開発を行うため企画競争を公募した。

当日は、複数の企業が説明会に参加し、開発に関する議論があったが、最終的にはパナソニック・ヘルスケア社が契約対象となり、開発規格提案書および開発実施体制が提示された。

5. 平成25年12月10日(TV会議)
第5回デバイス開発会議(資料5)

チップ開発・改良の進捗状況を評価し、臨床サイドからの要望や課題を提起した。今回の試作で組み立て工程の安定化と4wellタイプの設計を試み、乳癌細胞株(MCF-7)の生体スフェロイドを用いて酸素消費量算出に成功した経緯が報告された。

また今後の検討事項として、チップの設計改善や測定のばらつきを軽減する薄膜MEMS(Micro Electro Mechanical Systems)プロセス技術改善が挙げられた。

6. 平成26年1月21日(仙台)
開発機器納品(資料6)

パナソニック・ヘルスケア社による全自動受精卵呼吸測定開発機器の納品が行われた。その開発機器には下記の要件を満たすと判断された。

- マニュアルのマイクロプローブ廃止
- 生体適合材のみ使用
- 5分以内に測定可能
- 一度に受精卵4個まで測定可能
- 耐久性に優れている
- 安価であること
- 受精卵に有害事象が少ない
- 測定電流が低い
- 測定結果の再現性が高い

今後これらの機器を用いて動物卵・ヒト受精卵の呼吸量測定を試みていく。

7. 平成26年3月2日(仙台)
第11回胚細胞呼吸測定装置研究会
(第5回厚生労働省班会議)(資料7)

本年度に行われた研究に関する報告と議論が行われた。まず始めに、パナソニック・ヘルスケア社による全自動受精卵呼吸測定装置の開発経緯とその有用性が示された。これまでの問題点が改善され、癌細胞株やウシ受精卵を用いた呼吸量測定が可能となり、今後ヒト受精卵における呼吸量測定プロトコルの確立やその評価方法などが検討された。その後、PMDA相談、プロトコル作成や倫理委員会承認、ヒト余剰卵蓄積および管理などに関する経緯が提示・議論された。

平成26年度に行うヒト余剰卵を用いた臨床研究プロトコル作成および倫理委員会申請・承認(資料8)

今回、開発した機器を用いたプロトコルを作成し、東北大学倫理委員会に申請し平成26年2月に承認を取得した。今後、他の4大学病院においても同様に倫理委員会の承認を取得していく。当初は平成25年度内に全施設において取得予定であったが、機器開発に時間を要したため研究分担施設による承認は平成26年4月頃になる予定である。

余剰卵の蓄積およびその管理

各研究協力機関において、平成26年度の臨床研究に向けヒト余剰卵の集積及び管理を行っている。現段階では50例を研究予定と考えている。これまでのところ、余剰卵は東北大学病院で96例、秋田大学で60例あり、山形大学、弘前大学、福島県立医大では確認中である。管理方法・使用方法・廃棄方法などについても最終確認を行っている。

PMDAとの開発相談

今後の開発機器に関して、平成26年2月にPMDAと電話で相談を行った。薬事法に基づく医療機器として開発する必要性があるか、もしくは従来機器と同様に薬事法を介さない測定機器として開発するか検討していく必要があることを話し合った。さらに、胎児は「ヒト」と想定されているが受精卵は「ヒト」と認識されているか、また「ヒト」と定義されていなくても「ヒト」に準じて扱う必要があることについても今後考慮していく必要があることを確認した。

D・考察

今回の研究において、湿潤環境において全自動で測定が可能となり、今後の一般診療への普及を見据えた有望な機器が開発された。従来機器と比較し、測定の自動化、測定時の湿潤環境の保持、測定感度の高さ、有害事象の発生頻度などにおいて明らかに有用かつ簡便であることが推察された。プロトコル作成後の倫理委員会承認が若干遅れているが、今後速やかに進めていくことは可能である。早期にヒト余剰卵を用いた臨床研究を開始し、その有用性・安全性・操作性・経済性を検討していきたいと考えている。

E・結論

新規開発した受精卵呼吸量測定装置は、我々が目的としている容易な操作性と湿潤環境を維持した測定が可能な機器である。今後、ヒト余剰卵を用いてその有用性と安全性を検討し、日常臨床に応用していくことが可能になると期待している。

F・健康危険情報

特記事項無し

G・研究発表

特記事項なし

H・知的財産権の出願・登録状況

特記事項無し

(資料1)

第9回胚細胞呼吸測定装置研究会 (第3回厚生労働省班会議)

日時：平成25年6月8日(日) 9:00～10:00

場所：山形テルサ3階研修室A

プログラム

開会の辞

座長 東北大学 宇都宮裕貴

山形大学 阿部 宏之

チップ試作品の開発状況

東北大学 宇都宮裕貴

平成25年度厚生労働省科研費について

東北大学 宇都宮裕貴

各施設における進捗状況

各施設担当者

閉会の辞

東北大学 八重樫伸生

共催：東北トランスレーショナルリサーチ拠点形成ネットワーク協議会

(資料2)

第4回受精卵活性測定デバイス開発

生体を用いたデバイス評価
(末永研究室 ご協力)

2013年 9月 2日

パナソニック株式会社
オートモーティブ&インダストリアルシステムズ社
技術本部 エコマテリアル開発センター
バイオデバイスグループ

生体を用いたデバイス評価

実験計画

【日程】 2013/07/16 ~ 2013/07/19 (4日間)

【場所】 東北大学 原子分子材料科学高等研究機構(兼 環境科学研究科、工学部 化学・バイオ工学科) 末永研究室

【目的】 一次試作チップ(ME1301)を使った、生体(スフェロイド)の酸素消費量評価におけるノウハウの蓄積/課題抽出

- ◆測定プレート(Proto.1) 課題抽出
- ◆生体評価に至るまでの電気化学測定プロトコル ノウハウ蓄積
- ◆スフェロイド培養、マニピュレーション ノウハウ蓄積
- ◆溶存酸素の還元電流実測、スフェロイドによる酸素消費量に対する感度の把握
- ◆生体の酸素消費量評価に適したデバイス構造 ノウハウ蓄積、溶存酸素濃度分布シミュレーション協力要請

【評価サンプル】

受精卵位置決めキャビティサイズと作用電極サイズ
設計マトリックス

	作用電極 直径 [um]	作用電極 直径 [um]		
		10	5	3
キャビティ	400	○		
○形	300	○	○	
直径 [um]	240	○	○Typ.	○
	200	○	○	
	100		○	
	50		○	

※キャビティパターン端からの作用電極距離(C-W距離)
20 / 50 / 100 / 150 / 200um
上下対称測定

◆測定プレート(Proto.1) 実装品 3台

- ①については、測定プレート 2個分 実装する。(計 6チップ)
- ②については、測定プレート 1個分 実装する。(計 3チップ)

→ 測定プレート実装後、
フェロシアン化カリウムメディエータで初期CV評価 @門真

◆予備品

6種類のチップについて、各2個づつFFC実装する。

①キャビティ直径依存性
→ 最適デバイス構造

②作用電極直径依存性
→ 測定プロトコル

生体を用いたデバイス評価

実験結果 概要

※青字・・・東北大学 末永研究室ご協力

取り組み内容	進捗状況(できたこと)	今後の取り組み内容
①チップ構造設計／プロセス開発 ・ 一次試作 ME1301 - P01 ・ 溶存酸素濃度分布Sim.	◆P01条件Fix。評価サンプル確保 ◆ME1301構造 拡散Sim.実施 還元電流値、2D-Sim.情報入手	◇二次試作ME1301 - P02進行
②プレート実装 ・ Proto.1 構造決定 ・ 生体評価用Proto.1試作	◆Proto.1 完成 3プレート組立 →東北大(末永研)でのテストへ	◇Proto.1測定プレート改善 (プレート専用設計化、液シール構造改善、実装容易性向上 等)
③電気化学測定プロトコル開発 ・ 東北大(末永研)での評価	◆低濃度メディエータCV、CA測定 ◆溶存酸素還元電流測定 ◆メディエータ選択での課題抽出	◇メディエータ改善(低濃度FMA) → 微小電流測定系 必要 ◇電気化学測定による電極汚染、劣化抑制
④生体での酸素消費量評価 ・ スフェロイドを用いた評価 (1st try)	◆スフェロイド操作確認 ◆スフェロイド有無による酸素還元電流差を確認	◇第2回実験 計画検討 (第1回実験では、生体からの距離と酸素還元電流のデータ不十分)

今回ご報告内容

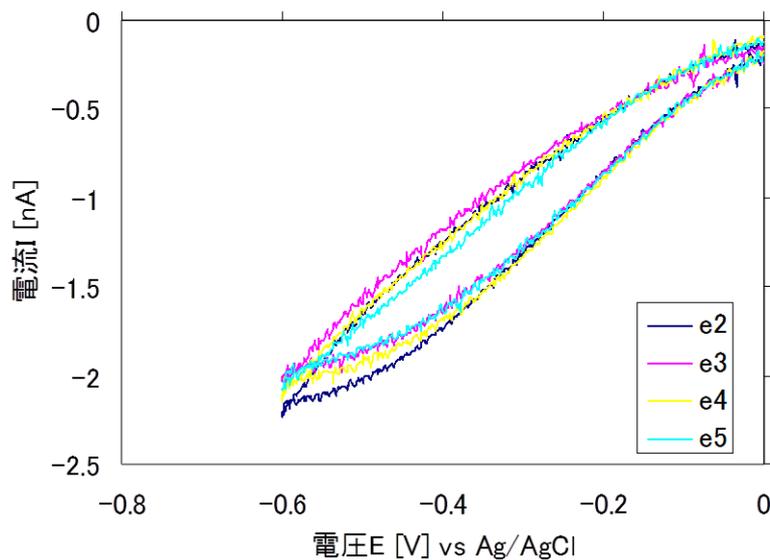
生体を用いたデバイス評価

測定液による
酸素還元電流測定

測定液中(ERAM - 2)での溶存酸素還元電流測定

【測定条件】チップ: ME1301-P01-02-05-0616

装置: HSV-100F (Hokuto Denko) 測定液: ERAM-2 走査範囲: 0 V → -0.5 V → 0 V

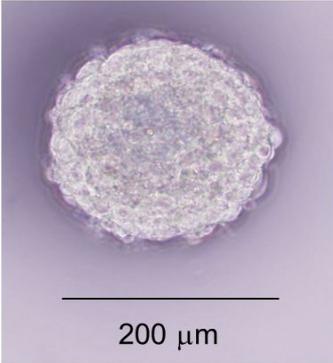
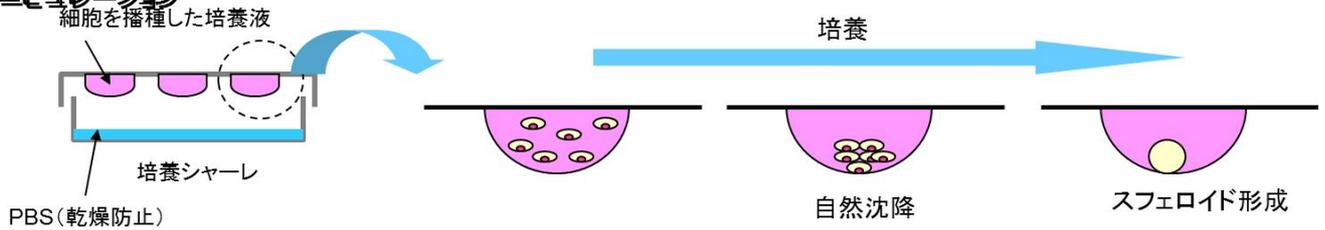


- ◆酸素還元電流 -2nA程度であり、電極サイズから想定される値が得られた。
- ◆還元側で定常電流は得られていない点については、今後原因調査を行う予定。
(末永先生コメント: 生体酸素消費の概算をすることは可能と思われる)

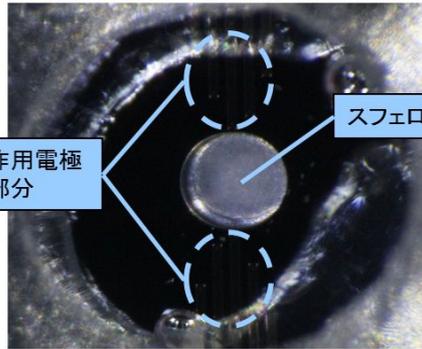
生体を用いたデバイス評価

MCF-7スフェロイド作製

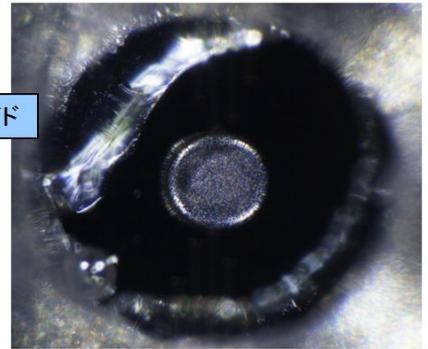
ハンギングドロップ法でMCF-7のスフェロイドを作製



培養液中のスフェロイド



キャビティ内に収まった様子



スフェロイド除去後のキャビティ

- ◆もくろみの直径で、スフェロイド作製が可能。
- ◆200μm径のキャビティへ、スフェロイドの操作ができることを確認。

生体を用いたデバイス評価

MCF-7スフェロイド呼吸活性測定

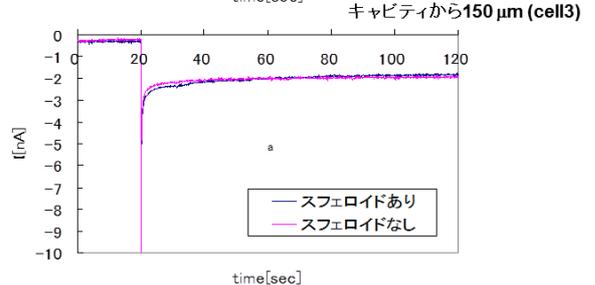
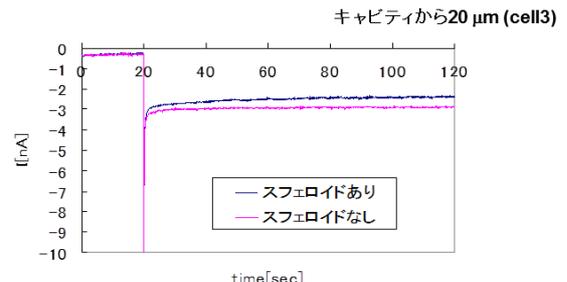
(I_r測定)

【測定条件】チップ: ME1301-P01-02-05-0812 装置: HSV-100F (Hokuto Denko) 測定液: ERAM-2
測定条件: 0 V (20 sec) → -0.5V (120 sec), 各電極1端子ずつなぎ変えて測定
測定対象: MCF-7スフェロイド 200 μm (200 cells, 3days)

cell1			
キャビティからの距離[μm]	あり[nA]	なし[nA]	差[nA]
20	-2.736	-2.976	-0.240
50	-3.428	-4.095	-0.667
100	-2.355	-2.623	-0.268
150	-2.988	-3.012	-0.024

cell2			
キャビティからの距離[μm]	あり[nA]	なし[nA]	差[nA]
20	-2.432	-2.722	-0.290
50	-3.102	-3.595	-0.492
100	-2.135	-2.482	-0.347
150	-2.662	-2.463	0.200

cell3			
キャビティからの距離[μm]	あり[nA]	なし[nA]	差[nA]
20	-1.938	-2.338	-0.400
50	-2.369	-2.876	-0.507
100	-1.773	-2.023	-0.249
150	-1.834	-1.941	-0.108



- ◆スフェロイドから遠い電極(150μm)と近い電極で、酸素消費量に差がみられた。
 - スフェロイドの呼吸活性を検出できていると考えられる
- ◆生体からの電極距離に対する依存性は、十分な評価ができていない(想定と合わない)。
 - 酸素濃度勾配の測定は未達。電極間の特性バラツキ低減を実施予定。

(資料3)

第10回 胚細胞呼吸測定装置研究会 (平成25年度第2回厚生労働省班会議)

日時：平成25年9月8日(日) 7:30~8:10

場所：旭川グランドホテル 6階 リンデンの間

〒070-0036 旭川市6条通9丁目

TEL：0166 - 24 - 2111

プログラム

座長 東北大学 宇都宮裕貴

開会の辞

秋田大学 寺田 幸弘

チップ試作品の開発状況

東北大学 宇都宮裕貴

各施設における進捗状況

各施設担当者

閉会の辞

東北大学 八重樫伸生

共催：東北トランスレーショナルリサーチ拠点形成ネットワーク協議会

共催：東北トランスレーショナルリサーチ拠点形成ネットワーク協議会

2013年9月8日 北日本産科婦人科学会学術講演会(旭川グランドホテル)において、第10回胚細胞呼吸測定装置研究会(平成25年度第2回厚生労働省班会議)が開催されました。当科の宇都宮裕貴准教授より試作品の説明、並びに進行状況の説明があり、それに対し活発な討論がなされていました。今回が10回目と言う節目の会議であり、具体的な機器の仕上がり具合も順調に進んでいます。来年度は機器を使用した臨床研究を始める予定であるため、今後さらなる基礎的研究を進めながら将来的な臨床応用に向けたデータを発信していけるよう各大学協力し、成果を上げていきたいと思ひます。



(資料4)

募集要領(企画競争)

1. 業務名

「全自動受精卵呼吸測定装置の開発」業務

2. 業務の目的・趣旨

近年、生殖医療の需要は著しく増加しているが、多胎妊娠による母体合併症や低出生体重児の増加が大きな社会問題となり、日本産科婦人科学会は生殖補助医療における多胎妊娠防止に関する見解をまとめ、原則として単一受精卵(胚)のみを移植することが提唱された。そして今後、着床能の高い優良な受精卵を選別することが非常に重要になると考えられている。従来、受精卵の形態学的評価のみで品質評価を行ってきたが、主観性が強く観察者間での結果に差が生じる可能性が高い。そのため、客観的で再現性のある高精度の評価方法が切望されている。従来の主観的な形態学的評価に受精卵呼吸測定装置を用いた客観的な機能評価を加えることにより、優良卵の選別が可能になると考え、昨年度クリノ社が全自動受精卵呼吸測定装置の試作を行った。試作機器は湿潤環境において全自動で測定が可能となり、今後の一般診療への普及を見据えた有望な試作品となった。しかしながら、反復使用による測定精度の低下や最適な培養環境の確立など、未だ多くの課題を抱えており、直ちに臨床研究に用いることはできない。そこで今回、この試作品を改良し、より高精度で操作性の向上した安価な装置の開発を行う。

3. 業務の内容

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。そのため、昨年度に初心者でも再現性の高い正確な結果が得られ、測定者による差異解消や測定のスピードアップを図るために、測定時に受精卵を測定ウェルにセットした後、全自動で測定出来るようにすることを目標に試作品の開発を行った。試作機器は湿潤環境において全自動で測定が可能となり、今後の一般診療への普及を見据えた有望な試作品となった。しかしながら、反復使用による測定精度の低下や最適な培養環境の確立など、未だ多くの課題を抱えており、直ちに臨床研究に用いることはできない。そこで今回、この試作品を改良し、より高精度で操作性の向上した安価な装置の開発を行う。

具体的には、下記の要件を満たすことが必要となる。

受精卵検査に伴い用いられる微弱電流が、昨年度試作機器と同等かそれ以下であること。

受精卵の呼吸測定感度が、昨年度試作機器と同様かそれ以上であること。

昨年度試作機器と比較して価格が低廉であり、且つ耐久性に勝ること。

昨年度試作機器と比較して、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。

(1) 業務報告等

業務終了後、全自動受精卵呼吸活性測定装置の開発品、電気化学計測データ及び開発報告書を提出し、本学担当者の確認を受けるものとする。

報告書の内容については本学担当者から照会があった場合は説明を行うこと。

業務の全部、又は一部が仕様書に基づいて行われず若しくは仕様書等に定める製造が行なわれていないと委託者が判断した場合は、受託者に対し再調査、又は修正等必要な措置を要求することがある。なお、その場合に要する経費は、本契約に含まれるものとする。

(2) 成果の帰属及び取扱いに関する体制

この契約書に基づき得られた成果物にかかる権利は、原則、東北大学と開発企業に帰属するものとし、

その取扱いについて十分に留意するものとする。

(3) 特許権等の使用

業務の実施に際し、第三者の所有する工業所有権及び技術情報等を使用するときは、あらかじめ本学担当者の承認を得るものとし、その使用に関して一切の責任を負うものとする。

(4) 業務を遂行する上で疑義が生じた場合は本学担当者と協議して定めるものとする。

4. 本件に参加する者に必要な資格及び要件等

(1) 国立大学法人東北大学契約事務取扱細則第6条の規定に該当しない者であること。

(2) 国立大学法人東北大学から取引停止の措置を受けている期間中の者でないこと。

(3) 暴力団員による不当な行為の防止等に関する法律(平成三年法律第七十七号)に規定する暴力団員、暴力団又は暴力団員が経営に実質的に関与している組織等の者、不正の利益を図る目的又は第三者に損害を加える目的をもって暴力団又は暴力団員を利用するなどした者、暴力団の維持、運営に協力している者、及び暴力団又は暴力団員と社会的に非難されるべき関係を有している者でないこと。

5. 提案書の提出方法等

(1) 提案書の提出場所

仙台市青葉区片平二丁目1-1 東北大学財務部調達室調達第一係

TEL 022-217-4869

FAX 022-217-4912

(2) 提案書の提出方法

提出方法は、5部を郵送又は持参すること

・郵送：簡易書留、宅配便等で送付すること

・持参：受付時間は平日9:00から17:00

・その他：提案書は日本語で作成し、提案書に関する照会先を明記すること。

(3) 提出書類

本募集要領及び審査基準に記載されている項目を基に想定される事柄を整理した具体的な企画提案書

本業務を行う上での実施体制に関する資料

本業務を行う上での詳細な見積書(概算見積書)及び工程表

(4) 提案書の提出期限等

提出期限：平成25年9月6日 17:00 必着

提出先：上記(1)に示す場所

(5) その他

提案書等の作成費用については選定結果に拘らず提案者の負担とする。

また、提出された提案書等については返却しない。

6. 説明会の開催について

説明会への参加を必須とする

日時：平成25年8月29日(木) 16:00~

場所：東北大学医学部3号館3階 産婦人科医局

〒980-8575 仙台市青葉区星陵町2-1

: 022-717-7254

7. 業務の規模及び採択数

業務の規模：9,000,000円(税込限度額)

採択数：1件

8. 選定方法等

選定方法：別紙審査基準のとおり

結果通知：提案者全員に選定結果を通知する。

9. 契約締結

契約書(案)は別添のとおりである。仕様書については採択者と提案書を基に作成・調整するものとする。

る。

なお、契約金額については提案書の内容を勘案して決定するので採択者が提示する金額と必ず一致するものではない。また、金額及びその他契約条件等が合致しない時には契約締結を行わない場合がある。

10. スケジュール

提案書の締切: 平成 25 年 9 月 9 日

審 査: 平成 25 年 9 月中旬頃

採択者の決定: 平成 25 年 9 月中旬頃

契 約 締 結: 平成 25 年 9 月下旬頃

業 務 期 間: 平成 25 年 10 月 1 日 ~ 平成 25 年 12 月 27 日 (予定)

11. その他

業務実施に当たっては、契約書、仕様書を遵守すること。

審査基準（企画競争）

・選定方法

提案書に基づき、東北大学医学系研究科に設置された「全自動受精卵呼吸測定装置の開発」審査委員会において審査を行い、評価が最も高かった者を契約予定者として採択する。

なお審査期間中、必要に応じて提案の詳細に関する追加資料の提出または面接を求めることがある。

・選定基準

【必須条件】 …… 企画提案書は次の各号に適していることを必須の条件とする。

提案内容が募集要領に記載してある目的、趣旨に合致してあること。

業務が具体的かつ適切な方法により計画されていること。

業務を遂行するのに必要な能力、知識、ノウハウを有していることが明確に分かること。

概算見積書の内容が合理的かつ明確であり、妥当な積算がなされていること。

【審査項目】 ……以下の各項目を4段階で評価する。

1. 安全性

受精卵検査に伴い用いられる微弱電流が、昨年度試作機器と同等かそれ以下であること。

2. 有効性

受精卵の呼吸測定感度が、昨年度試作機器と同等かそれ以上であること。

3. 経済性

昨年度試作機器と比較して価格が低廉であり、且つ耐久性に勝ること。

3. 操作時間

昨年度試作機器と比較して、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。

5. 概算見積額の内容、妥当性

ただし、提案を確認できないもの、具体性に欠け意味を成さないと判断されたものについては不可とし、**一項目でも不可があったものは不採用とする。**

【評価基準表】100点満点

審査項目	点数	評価基準			
		優	良	可	不可
1		30	15	6	不合格
2		40	20	8	不合格
3		20	10	4	不合格
4		10	5	2	不合格

「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

- 募集公告（案）
- 募集要領（案）
- 調達日程（案）

(資料5)

受精卵活性測定デバイス 開発進捗

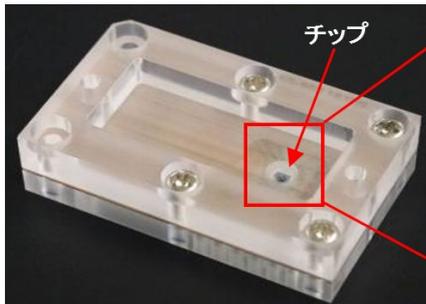
2013年 12月 10日

パナソニック株式会社
オートモーティブ&インダストリアルシステムズ社
技術本部 エコマテリアル開発センター
バイオデバイスグループ

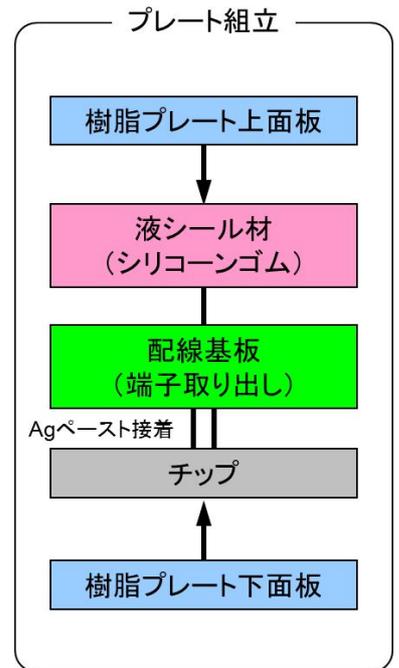
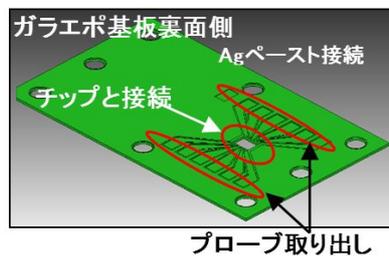
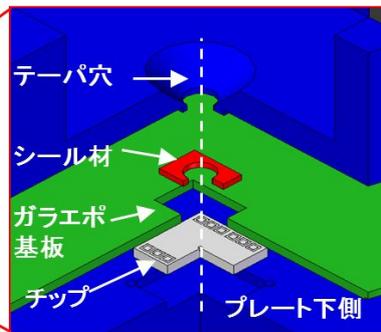
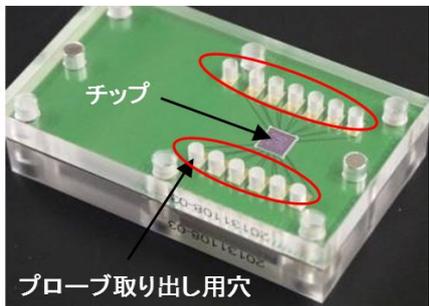
測定プレート設計開発進捗

測定プレート構造 (Proto.2)

ウェル側



裏面側

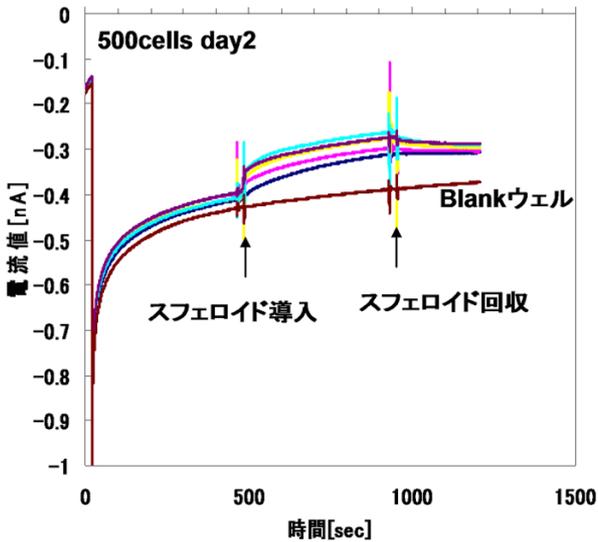


Proto.1と比べ、組立容易性を向上させたProto.2へ切り替え。
ES0は、Proto.2の4ウェル構造のプレートを設計/試作中。

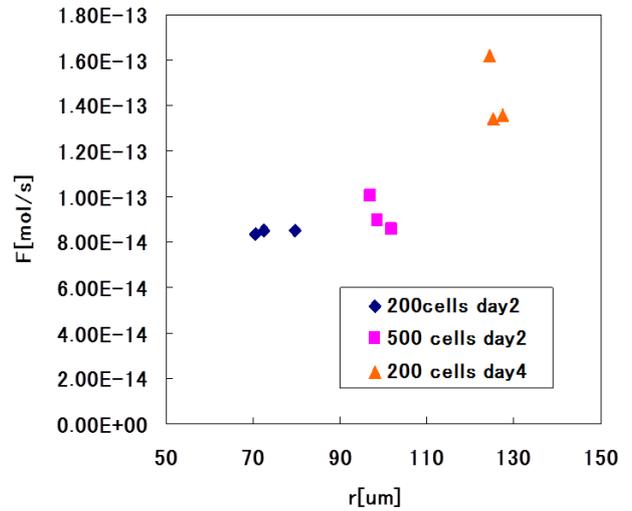
生体(スフェロイド)でのデバイス機能評価状況

スフェロイド(細胞塊)
酸素消費量測定

評価チップ : ME1301-P02-03 C11 Proto.1
測定方法 : 6電極同時ステップ印加(-0.5V印加)
測定液 : ERAM-2



(1) スフェロイド導入/回収と酸素還元電流変化



(2) 酸素消費量とスフェロイド径の相関

- ◆ 酸素還元電流の外乱要因を低減し、スフェロイド近傍での溶存酸素濃度勾配の検出に成功。
- ◆ スフェロイド近傍での溶存酸素濃度勾配から酸素消費量を算出、スフェロイド径と相関があることを確認。(マイクロプローブ方式と同様の傾向を示す)

生体(スフェロイド)での呼吸活性検討

測定結果(代表例)

【測定条件】チップ:P02-03 Prot.1 C11-e12345
装置:HA1010mM8 (Hokuto Denko)
測定液:ERAM-2
走査範囲:0V→-0.5V

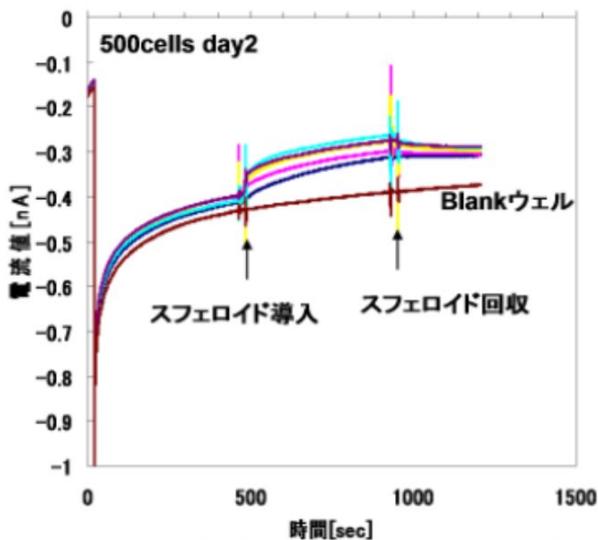


Fig. 3 測定結果(WE6はblankウェルに接続)

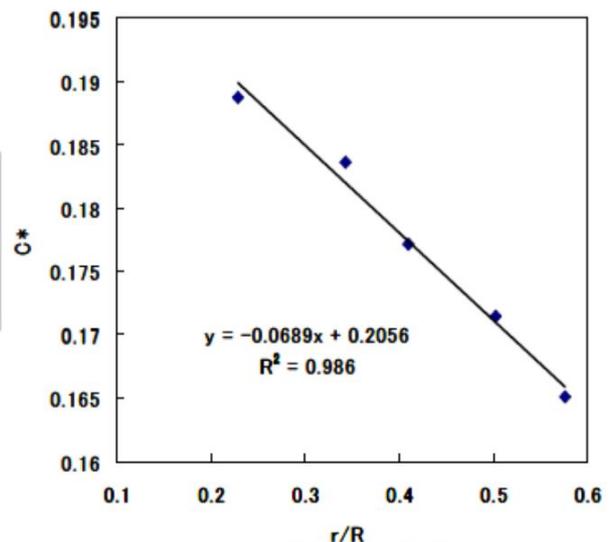


Fig. 4 溶存酸素濃度プロット

- ◆ 電極距離依存的に酸素濃度勾配を検出できた(第2回測定と同様の結果)

まとめ／今後の計画

まとめ

- (1) 専用設計のProto.2測定プレート(1ウェルタイプ)を完成。組立工程の安定化を確認。
4ウェルタイプのES0測定プレート設計中。2013年12月中に完成予定。
- (2) 東北大学 工学部 末永研究室のご協力により、生体(スフェロイド)での酸素消費量算出に成功。
Ptマイクロプローブ方式で報告されている「スフェロイド径と酸素消費量の関係」と同様の傾向を確認。

今後の検討予定

- (1) チップ設計／薄膜MEMSプロセス技術開発
 - ・生体近傍での溶存酸素濃度分布の二次元分布を考慮した、チップ設計の改善
 - ・測定バラツキ、電極特性バラツキを低減するチップ設計、および薄膜MEMSプロセス技術改善
- (2) プレート設計／組立工法開発
 - ・動物受精卵での実験に対応可能な、「ES0測定プレート」の設計および試作
- (3) 電気化学測定プロトコル開発
 - ・複数の生体(スフェロイド)での酸素消費量比較
 - ・測定バラツキを低減する測定条件の開発

(資料 6)

平成 2 5 年度

「全自動受精卵呼吸測定装置の試作機器改良業務」 業務完了報告書

平成 2 6 年 1 月 2 1 日

パナソニック ヘルスケア株式会社

目次

1 はじめに.....	3
1.1 背景と課題.....	3
1.2 東北大学からの仕様書の抜粋.....	5
1.3 東北大学からの業務要件.....	8
1.4 実施スケジュール.....	8
2 設計試作.....	9
2.1 チップ型電極、プローブの試作.....	9
2.2 変換アダプターの試作.....	13
3 性能評価.....	15
3.1 チップ型電極の評価検証結果.....	15
3.1.1 フェロセンメディエータ液中の酸化還元電流評価	16
3.1.2 乳がん細胞スフェロイドを用いた酸素消費量測定検証	16
3.1.3 酸素濃度勾配のシミュレーションと酸素消費計算式	19
3.1.4 測定時間に関する検証	19
2	
4 試作検討結果.....	21
5 試作品納品物.....	22
6 打合せ記録.....	23
6.1 2 0 1 3 年 1 2 月 1 0 日 報告資料	23
6.2 2 0 1 3 年 1 2 月 2 4 日 報告資料	26

1 はじめに

1.1 背景と課題

生殖補助医療による出生児が50人に1人の時代を迎え、我が国では約21万人が生殖補助医療を受ける時代となっている。また、先進諸国である米国、欧州においても、生殖補助医療の状況は我が国と同様の環境が整備され、それぞれの国において数十万人以上が生殖補助医療を受ける状況にある。

【国内】

不妊で悩むカップル約230万カップル
生殖補助医療を受けた患者約21万人
約213,800回治療
特定不妊治療助成金支給回数約8万4,395件

【米国】

生殖補助医療を受けた患者国内の0.7倍

【欧州5カ国】

生殖補助医療を受けた患者国内の1.9倍

出典：不妊治療情報センター情報、2009年時厚生労働省発表、日産婦学会複数論文より引用

【国内】

人工受精約1万円/回
体外受精約30万円/回
顕微授精約40万円/回

【米国】

体外受精約12,500ドル/回

【欧州：イギリス例】

体外受精約6,534ドル/回

出典：不妊治療情報センター情報、徐クリニックWeb

体外受精及び顕微授精のみとなります。

治療1回につき15万円を上限額として、

初年度は1年度()当たり3回、2年度目以降は1年度当たり2回を限度に、通算5年度(期間が連続している必要なし)まで、かつ合計10回まで申請することができます。

生殖補助医療に要する一回当たりの費用は、人工受精で約1万円、体外受精で約30万円、顕微授精で約40万円と高額であり、先進諸国でもほぼ同様の費用が掛かる。

生殖補助医療により着床、妊娠に至る率は約3割前後と言われ、個人が負担する医療費は大きな負担となる。

また、児を儲けるけるために複数回の生殖補助医療を受けることに対するメンタル面での個人の受ける負担は非常に大きい。

このため、東北大学では、着床、妊娠に至る率に影響を及ぼしている、胚移植時の最も良好に発育している卵の選択指標として、通常行われている形態学的指標(顕微観察による割卵状態等の観察による)に加え、卵の呼吸の結果である酸素消費の状態を評価する、胚細胞呼吸測定装置をクリノ株式会社と共に開発し世に送り出している。本胚細胞呼吸測定装置は臨床現場で使用され、有意に妊娠率の向上成果を得ている。

課題：しかしながら、現在の胚細胞呼吸測定装置による測定は、測定用の電極を卵の近傍へ配置する手段が用手法によるため、臨床現場におけるルーチン使用に対する時間的、人件費的コストアップとなる導入に対する障壁が存在する。本受託業務で開発・試作される測定デバイスは用手法による操作を排することを実現し胚細胞呼吸測定装置（以下、受精卵呼吸測定装置とも表現）を簡便に臨床現場で利用することを可能とするために必要なデバイスの提供を目指すものである。

1.2 東北大学からの仕様書の抜粋

1.3 東北大学からの業務要件

本業務で、前記東北大学より指定された仕様を満たすチップ型電極（以下チップ）及びチップを内蔵するチップ型プローブ（以下プローブ）について、

[東北大学 仕様書による要件]

- 1) チップの設計試作
- 2) プローブの検証評価
- 3) プローブの電気化学的検証

の各項目について、東北大学より提示された要件を満たすチップ型プローブ及び、昨年度試作機器と本業務で試作するチップ型プローブとを接合する変換アダプターを成果物とする。

[東北大学 仕様書による成果物]

- 1) チップ型プローブの試作品
- 2) チップ型プローブと昨年度試作器と接合する変換アダプター

1月（上旬）

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）

ポテンショスタット改造

総合評価・報告書作成

2 設計試作

東北大学より提示された仕様書に従い、以下の試作仕様のチップ型プローブ及び変換アダプターの仕様を設定した。

2.1 チップ型電極の試作、プローブの試作

図1-1 に、評価用チップ型電極（チップ）を組み込んだチップ型プローブの構造を示す。最終的には、この評価用チップが測定数に合わせて数個（5 個）並んだ形でアクリル樹脂プレートに埋め込まれる形のチップ型プローブを試作した。

図1-1. 試作したチップ型プローブの構造

図1-2. TEG(Test Element Group)切り出し

4mmチップシール（シリコーンゴム）

アクリル背面板

参照極(Ag/AgCl) 対極(Pt線)

アクリルプレート

配線基板

(電極取り出し)

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

試作したプローブ形電極には、図1-2 及び1-3 に示したチップ型電極(4mmx4mm 角)が培養液の液漏れを防ぐシールにより固定されており、本チップ型電極の中心に受精卵を静置、卵から一定距離毎に配置された電極露出部(図1-3)で呼吸活性の指標である酸素還元電流を測定することができる。図1-4 に電極露出部及び絶縁部の寸法を示す。また、図1-5 に電極のSEM(電子顕微鏡像)を示す。同図の左端円弧が受精卵を静置するための陥没穴で、その中心から直径方向に電極露出部が並んでいる。

図1-3. 試作したチップ型電極の構成図と寸法

図1-4. 電極部寸法(ディメンジョン)

チップ構造チップ構造

受精卵(直径=約200 μ m)

作用電極部(微小開口部)

絶縁体層(SiO₂)

作用電極配線(Pt)

受精卵位置決め

キャビティ構造

Si基板

測定液

200 μ m

100 μ m

20mm~300mmの範囲で

複数個配置

【Pt(電極)拡大】

SiO₂

(絶縁部)

Pt(電極露出部)

【電極構造】

電極部分:Pt/Ti

絶縁部分:SiO₂

SiO₂のエッチングにより電極部分を露出

電極直径5 μ mのものを設計

図1-5. 試作した電極部のSEM(電子顕微鏡像)

チップ型プローブは、上記チップ型電極、培養液を溜めるアクリルプレート、チップ型電極とアクリルプレート間の液シール(培養液の漏防止)から構成される。試作した最終形態であるチップ型プローブの写真を以下に示し、表1-1 に構成をまとめた。

図1-6. 試作したチップ型プローブ

表1-1 チップ型プローブの構成

最終形態 構成部品 概要

チップ型電極

MEMS 技術と半導体製造技術の微細加工技術を使用したSi, SiO₂,Pt(白金)で構成される酸素還元電流を測定する電極と絶縁体を構成する

アクリルプレート

培養液を溜め、受精卵をチップ型電極に静置するための誘導するウェルを構成する

チップ型プローブ液シール

その他部品

チップ型電極をアクリルプレートのウェルに固定し、駅漏れを防止するためのシール。シリコンを材料として採用する

2.2 変換アダプターの試作

2.1 で試作したチップ型プローブを使って、受精卵の呼吸活性を培養液中の溶存酸素を酸素還元電流測定により推定するために、ピコアンペア[pA]オーダーの微小電流を測定するための、ポテンシostatといわれる装置が必要となる。本業務では、クリノ株式会社製CRAS システムと呼ばれるポテンシostatを含む測定装置で測定可能となるよう、同装置と本業務で試作したチップ型プローブを接続する変換アダプターも試作した。

試作した変換アダプターとクリノ株式会社製のCRAS システムとの関係を図2-1 に示す。

図2-1. 試作した変換アダプター (赤字表示部)

本変換アダプターと試作したチップ型プローブの接続部を図2-2 に示す。

図2-2. 変換アダプターとチップ型プローブ (図中 AIS プレート) 接続部

3 性能評価

東北大学より指定された要件 (1.2 東北大学からの仕様書の抜粋 にて再掲) について、評価検証結果を以降に示す。

3.1 チップ型電極の評価検証結果

本業務で試作したチップ型電極の断面イメージ及びチップ型電極の上面イメージ (実物) を図3-1 に再掲する。

図3-1. 試作したチップ型プローブ(再掲)

3.1.1 フェロセンメディエータ液中の酸化還元電流評価

本チップ型プローブについて、10mmol/L のフェロセンメディエータ液中で銀塩化銀参照電極を用いて酸化還元電流をCV 測定により検証を行った。以下に結果を示す。

図3-2. 10mmol/L フェロセンメディエータ液中のCV 測定

本結果より、10[mmol/L] フェロセンメディエータ液中で、対銀塩化銀参照電極に対する酸化還元電流は10[nA]以下で、東北大学からの要件である30[nA]以下を満たしていることを検証できている。

3.1.2 乳がん細胞スフェロイドを用いた酸素消費量測定の検証

本チップ型プローブについて、乳がん細胞のスフェロイドを用いて、細胞の酸素消費量の測定検証を行った結果を以下に示す。

3.1.2.1スフェロイドの作成

乳がん細胞を直径が人受精胚と同等の直径200[um]になるようスフェロイドを図3-3 に示す手順で作成した。

【測定条件等】共通測定液 = 10mmol/Lフェロシアン化カリウムを含む、0.1mol/L 塩化カリウム溶液

(2012年度試作チップ、Ptマイクロプローブ電極) 測定系 = HV 405@北斗電工、北斗電工製 R-6参照極、Pt薄膜対極

(2013年度試作チップME1301B D3) 測定系 = HV-4000@パナソニックAIS、弊社所有参照極(対極と共用)

図3-3. スフェロイドの作成手順

作成されたスフェロイドを図3-4 に示す。

図3-4. 作成されたスフェロイド

3.1.2.2酸素消費量の測定検証

図3-5. スフェロイドによる酸素還元電流測定 1

図3-6. 陥没穴外周淵からの電極距離

図3-5 左図はスフェロイドをチップ型プローブに投入する前後で、ポテンショスタットにより測定される電流値 = 酸素還元電流値が変化すること、スフェロイドからの距離が離れるほど (WE1 が最もスフェロイドに近く、WE2,3 と距離は離れる) 酸素還元電流が少なくなり、スフェロイドにより酸素濃度勾配が生じていることを測定できている。図3-5 右図はスフェロイドの直径と酸素消費量 (後述) と相関があることを示している。次に、図3-7 右図で、電極がスフェロイドに近いほど (WE1=20[um]...WE6=300[um]) 溶存酸素濃度 (図中C*) が低い(受精卵の呼吸により溶存酸素濃度が低くなっている)相関が示せている。

図3-7. スフェロイドによる酸素還元電流測定

右方向：卵子から貴距離が近い

3.1.3 酸素濃度勾配のシミュレーションと酸素消費計算式

理論シミュレーションから酸素濃度勾配と酸素消費計算式を算出し、前項のスフェロイドを用いた酸素消費量算出に用い、理論値相当の酸素消費量が算出できていることを確認した。図3-8 に算出した溶存酸素濃度C(R)と受精卵中心からの距離R の関係式を示す。

図3-8. 酸素濃度勾配、酸素消費計算検討

3.1.4 測定時間に関する検証

前項のスフェロイドを用いた検証で、測定時間 (東北大学の要件では5 分以内) の検討と検証を行った。

図3-9. 5 分間の酸素還元電流の推移

【バルクの溶存酸素濃度】 $C_0 = 0.209 \text{ mmol/L}$

【各電極近傍の溶存酸素濃度】 $C^* = C_0 (1 - I / I_{BG})$

【電極とスフェロイドの中心の距離】 $R = (L_2 + r_2)0.5$

【スフェロイドからの距離に対する酸素濃度】

$C(R) = (r/R) \cdot (C^* - C_0) - C_0$

酸素濃度プロファイルがスフェロイドを中心とした半球面拡散であるとする

【スフェロイドの呼吸活性】

$$F = 2 \quad rD(C^* - C_0)$$

(酸素の拡散係数 $D = 2.1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$)

図3-9 で、スフェロイド投入直後から酸素還元電流の変化が読み取れており、定常状態（10分以上）を待たず、酸素還元電流の変化時定数を含む波形プロファイルから5分以内の測定が可能であることが示唆された。

4 試作検討結果

1) チップ型電極の設計・試作

「各評価」

- ・マニュアルのマイクロプローブの手技を廃止すること達成マイクロプローブ廃止
- ・電極には生体適合材料を使用すること達成
- ・チップ電極は受精卵に悪影響を与えないこと達成
- ・操作性に優れ、5分以内に測定可能にすること達成5分以内測定可能
- ・測定数に合わせて数個（6個程度）並んだ形のものを試作すること達成5個並んだものを試作

「総合評価」

- ・マニュアル操作をなくし、一度に5分以内で測定できる設計になっていること達成
- ・受精卵に対し有害な事象が生じないこと達成
- ・耐久性に優れ、高価でないこと達成

2) チップ型プローブの検証評価

「各評価」

・従来機器のポテンシオスタットを改造し、チップ型電極による測定を可能にする達こと成変換アダプターを試作

・測定アルゴリズムの評価をすること達成報告書本文に記載

・従来機器のソフトを改造し、チップ型電極による酸素消費計算を可能にする達こと達成従来機器のEXCEL出力にて計算可能

・酸素濃度勾配のシミュレーションをし、酸素消費計算式を開発すること達成報告書本文に記載

「総合評価」

・チップ型電極による測定が可能なポテンシオスタットであること達成変換アダプターを使用して実現

・酸素消費量の計算を可能にし、計算式を確立すること達成計算式確立

3) チップ型プローブの電気化学的検証

「各評価」

・測定電流を銀塩化銀参照電極に対し、10mmol/Lフェロセン液中で30nA以下達成10nA以下実現

・測定回数を重ねても、再現性のある結果が得られること達成報告書本文に記載

「総合評価」

・測定電流が30nA以下で測定可能であること達成10nA以下実現

・再現性のある結果が得られること達成報告書本文に記載

業務成果

シリコン、シリコン、アクリル、白金のみで構成、いずれも生体適合材量産効果を見込める半導体プロセスにより実現

5 試作品納品物

1. 本報告書ファイルに試作チップ（クリアファイル中）
2. クリノ社製CRASシステム用変換アダプター

6 打合せ記録

6.1 2013年12月10日 報告資料

パナソニック（株） A I I I I S 社技術本部エコマテリアル開発センターバイオデバイスグループ2

2013/12/24

受精卵活性測定デバイス開発

開示先限定：東北大学、PHC

まとめ / 今後の計画

- (1) 専用設計のProto.2測定プレート（1ウェルタイプ）を完成。組立工程の安定化を確認。4ウェルタイプのES0測定プレート設計 / 第1試作完了。Proto.2同等性能であることを確認。
- (2) 東北大学工学部末永研究室のご協力により、生体（スフェロイド）での酸素消費量算出に成功。
- (3) スフェロイド径を変えてスフェロイド酸素消費量を評価したが、スフェロイド径に依存した傾向は見られるものの、チップ間 / 測定間のバラツキが現状では大きい。

今後の検討予定

- (1) チップ設計 / 薄膜MEMSプロセス技術開発
 - ・ 生体近傍での溶存酸素濃度分布の二次元分布を考慮した、チップ設計の改善
 - ・ 測定バラツキ、電極特性バラツキを低減するチップ設計、および薄膜MEMSプロセス技術改善
- (2) プレート設計 / 組立工法開発
 - ・ 動物受精卵での実験に対応可能な、「ES0測定プレート」の設計および試作
- (3) 電気化学測定プロトコル開発
 - ・ 複数の生体（スフェロイド）での酸素消費量比較
 - ・ 測定バラツキを低減する測定条件の開発

以上__

(資料7)

第11回 胚細胞呼吸測定装置研究会 (第5回 厚生労働省医療技術実用化総合研究事業 班会議)

日時：平成26年3月2日(日)9:00~10:00

場所：江陽グランドホテル4階 千歳の間

プログラム

進行 東北大学 宇都宮 裕貴

- | | |
|-------------------|--------------------|
| 1・開会の辞 | 東北大学 八重樫 伸生 |
| 2・試作機器の開発状況 | パナソニック(ヘルスケア/AIS社) |
| 3・本研究会今後の方向性 | 東北大学 宇都宮 裕貴 |
| 1) 倫理申請、余剰卵蓄積について | |
| 2) 研究報告書記載について | |
| 3) 来年度の研究計画 | |
| 4・各施設における進捗報告 | 各施設担当者 |
| 5・閉会の辞 | 秋田大学 寺田 幸弘 |

第11回 胚細胞呼吸測定装置研究会(第5回 厚生労働省医療技術実用化総合研究事業 班会議)が平成26年3月2日(日) 江陽グランドホテルで開催されました。パナソニック・ヘルスケア社様、クリノ社様と検討を重ねて胚呼吸測定装置の試作品がついに完成し、牛を用いた研究結果等に対して有意義なディスカッションが行われました。倫理申請等の調整を経て平成26年度からはいよいよ本格的な研究開始となります。研究の結果について十分議論を重ね、今後の生殖医療における新たな指針を東北の地から世界へ発信していくことができればと思います。

