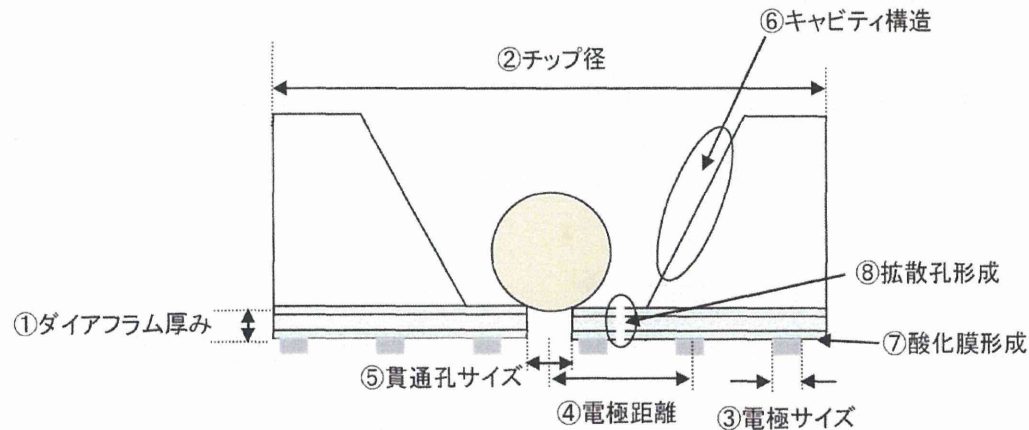


受精卵活性測定デバイス（一次試作計画）

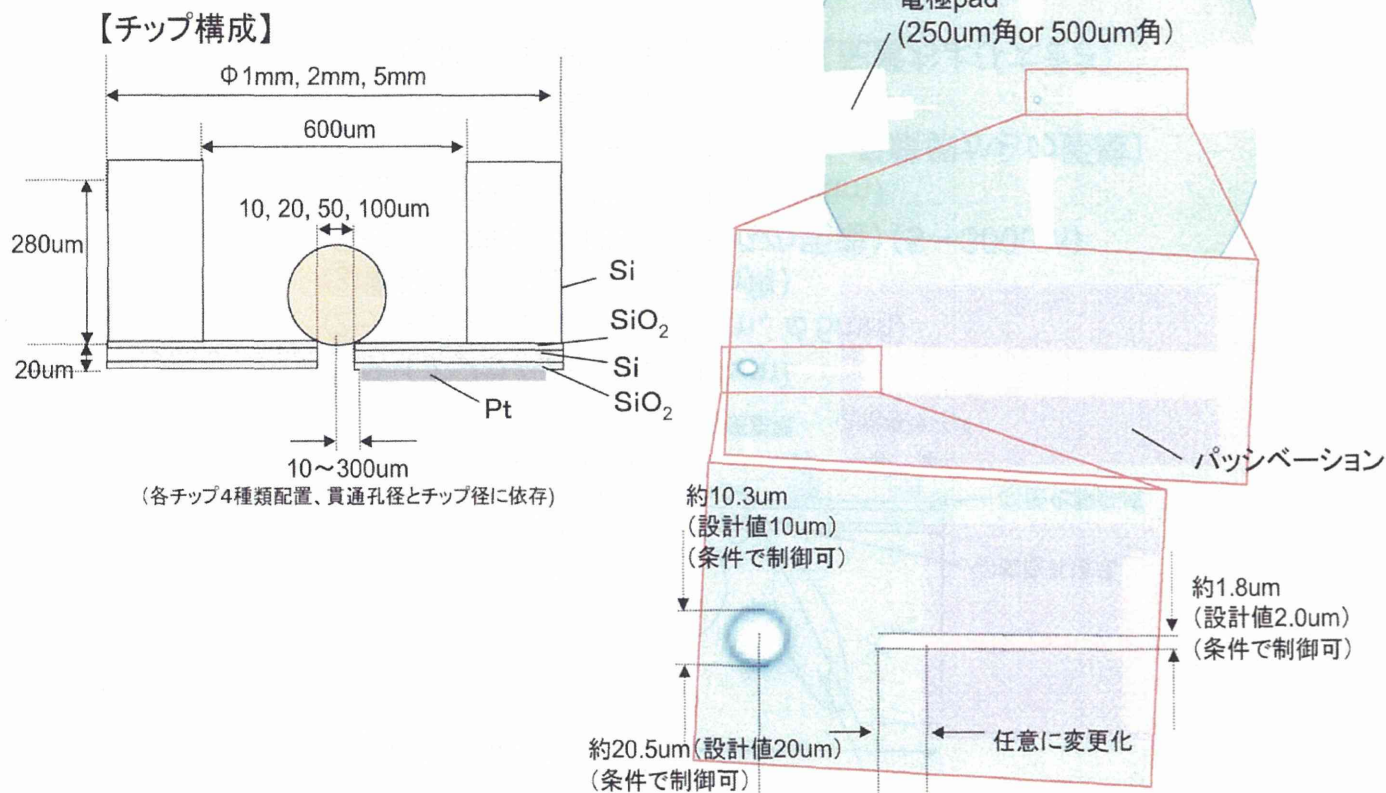


- ①ダイアフラム厚み(5~15um)
- ②チップ径(ϕ 1mm、 ϕ 2mm、 ϕ 5mm)
- ③電極サイズ(2um角, 5um角)
- ④電極距離(受精卵位置からの距離)(5~300um)
- ⑤貫通孔サイズ(10, 20, 50, 100um)
- ⑥キャビティ構造(垂直、テーパー、受精卵からの距離)
- ⑦酸化膜形成(有り、無し)
- ⑧拡散孔形成(有り、無し、拡散孔配置および大きさ)

酸素濃度勾配感度シミュレーションの結果を踏まえて、仮パラメーターを決定

受精卵活性測定デバイス（一次試作現状）

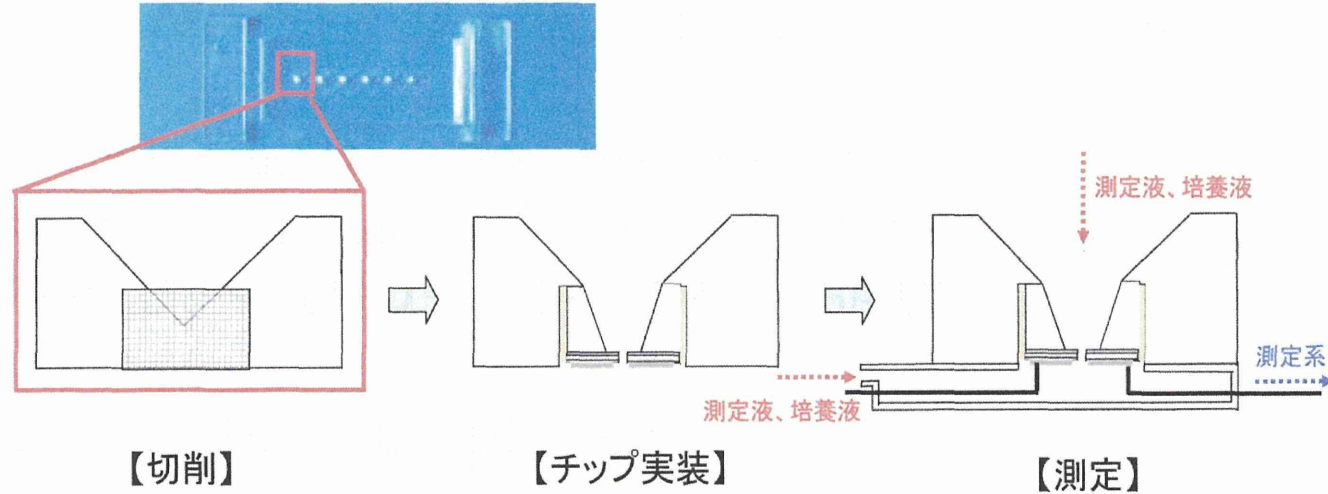
【電極構造（光学顕微鏡）】



ほぼ狙い通りの形状を有したチップが完成
北斗電工様での試作評価に向け、実装検討中、他の形状に関しては並行して作製

受精卵活性測定デバイス（試作測定評価）

従来の樹脂プレートを切削加工して、試作チップを実装、評価



10mmol/L フェロシアン化カリウムを含む0.1 mol/L塩化カリウム溶液中で、サイクリックボルタンメトリー(CV)を比較し、電気化学的性能を確認予定。

項目/日程	1月	2月	3月
チップ試作	1次試作	2次試作	他構造試作/検討
CV評価		弊社内部検討	北斗電工様測定
樹脂プレート試作		試作/実装検討	

(Fertil Steril 2012;98:849–57)

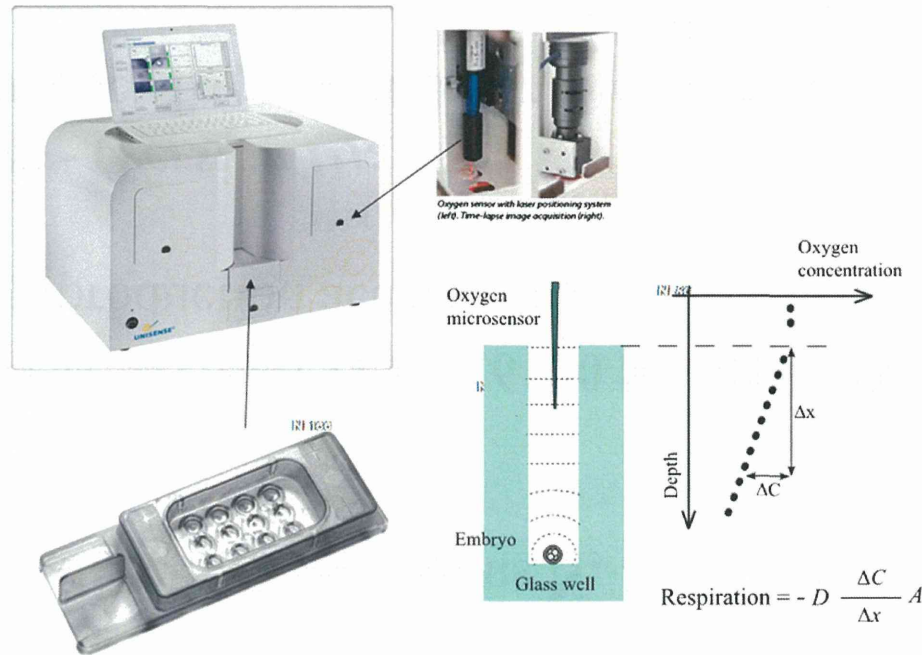
Time-dependent O₂ consumption patterns determined optimal timeranges for selecting viable human embryos

Alberto Tejera, Ph.D., Javier Herrero, Ph.D.,
Thamara Vilorio, Ph.D., Josep Lluís Romero, M.D.,
Pilar Gamiz, Ph.D., and Marcos Meseguer, Ph.D.

Instituto Valenciano de Infertilidad, Universidad de Valencia,
Valencia, Spain

世界での開発状況

Spain & Denmark 合同チーム



(Embryoscope, version C; Unisense Fertilitouch)

Name: Unisense FertiliTech A/S

Address: Tueager I, DK-8200 Aarhus N, Denmark

Device name:

EmbryoScope'M Assisted **11 884.6120 85 MQG** (Version **D**)
IVF Incubator reproduction accessories

EmbryoScopem - (Version D):

Indication for Use: To provide an environment with **controlled temperature, CO2 (and other gases)** for the development of embryos.

This model has an integrated inverted **microscope and imaging system for embryo viewing**.

Device use is limited to five days (120 hr) covering the time from post-fertilization to day **5** of development.

EmbryoScope™ Time-lapse Embryo Monitoring System



■ Alberto Tejera (バレンシア大)の知財調査状況報告

■ 特許調査

(ガラス電極様の電気化学による酸素濃度測定に関する技術調査)

PCT出願公開なしを確認後、USPで拡大調査

式No.	登録件数	検索項目	条件式
S001	47,001	全文	embryo
S002	1,188,633	全文	quality
S003	715,872	全文	oxygen
S004	566,731	全文	consumption
S005	303,857	全文	evaluate
S006	491,349	全文	evaluation
S007	189,748	全文	oval
S008	60,458	全文	egg
S009	2,445	論理式	(S001+S007+S008)*S002*S003*S004*(S005+S006)

2013年1月時点で出願情報なし、但し、

クラーク電極方式によるメタン濃度測定特許あり(既調査済み)

ルミノホア層による酸素濃度依存発色測定による特許あり(既調査済み)

関連キーワードによるUSP網羅調査 2,445件中にも該当開示情報なし

試作チップに関連するUNISENSE社知財の存在確認できず。

受精卵活性測定デバイス 打合せ

■議事録(ポイント抜粋)

1. 毒性評価について

チップの材料について、毒性の確認が必要
基本的に生体に有害な物質が含まれていないかはデバイス社に
データあり。完成品については外部有識者への評価依頼等検討する。

2. チップ組込みプレートでの卵子観察について

実体顕微鏡による上部からの観察で問題なし。

3. 培養液の消費量について

20mL以下であればよい。さらに5mL以下であれば問題にならない。

4. チップ評価用卵子について

牛の卵子が大きさ的に人に近い。阿部先生との相談も。

5. チップ全体について

電極が非常に小さいため、微小な電極サイズばらつきに注意する
必要あり。

試作方向性については、現行プレートを改造へ組込み、パナソニック
内、北斗での電極特性評価に向け進める。北斗との協議・評価に
ついては2月25日の週で別途調整、設定する。

測定デバイスの評価

日時： 2013年2月27日 北斗電工打合せ

場所： 北斗電工厚木工場

関係： 青柳、内海、福泉、小林、
佐竹、山本(実験総括)、小野、久本(記録)

内容

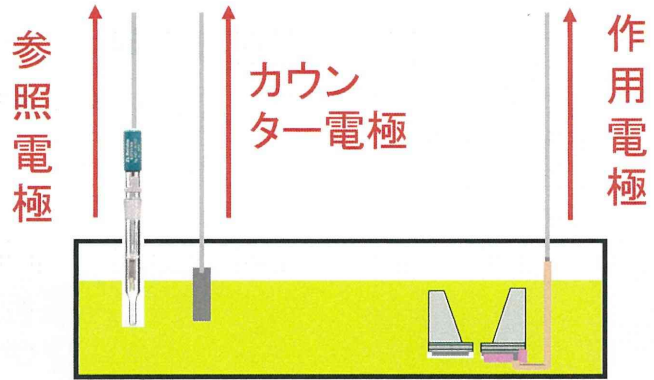
相互質疑の後、実験による電気化学反応測定
(Cyclic Voltammetry)にて電極評価実施

受精卵活性測定デバイス（CV内部評価）

【測定法概要】

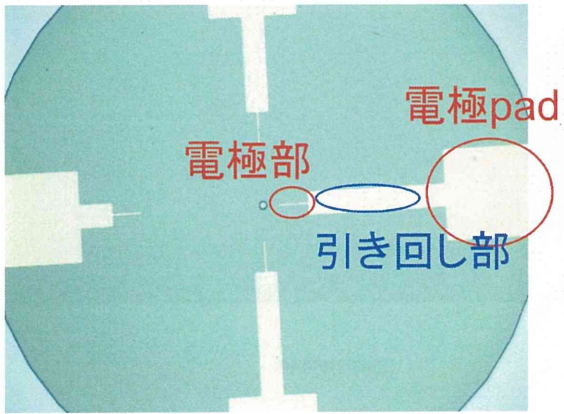
ポテンシostat: 北斗電工製 HZ-3000
 参照電極: 銀/塩化銀電極
 カウンター電極: Pt膜付き板(弊社作製)

* 27日訪問時は、念のためカウンター電極もお持ちする予定です。

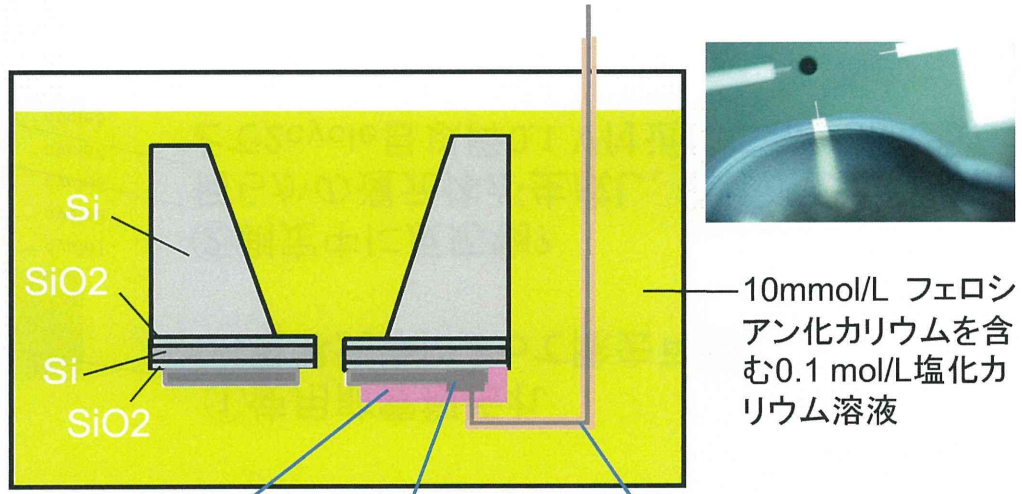


* 接続はワニ口クリップで可

【作用極拡大図】

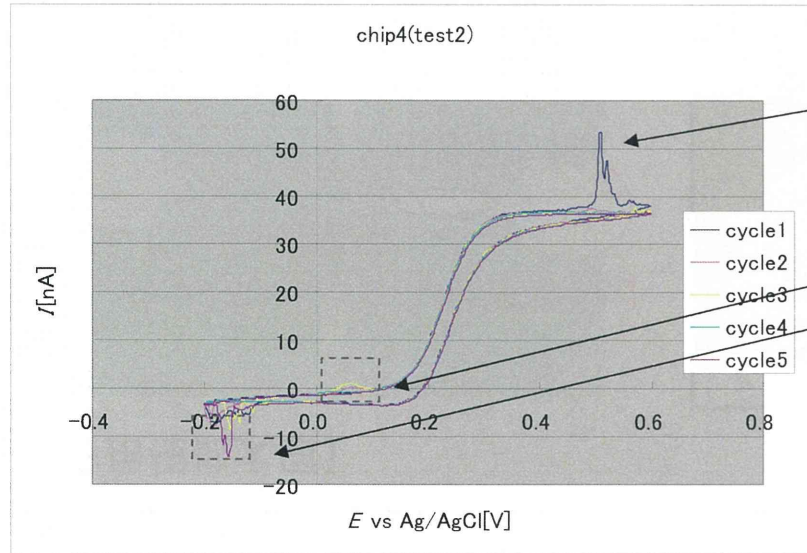


Φ2mmのチップを使用



絶縁層(UV硬化樹脂)
 導電ペースト(Ag)
 被覆銀線(φ0.1217)
 10mmol/L フェロシアン化カリウムを含む0.1 mol/L塩化カリウム溶液

受精卵活性測定デバイス(CV内部評価-2)



①使用前電極汚れ

→電界洗浄によって除去可能

②測定中に反応物?

何らかの還元体が生成し、それが酸化されることで2cycle目以降0.1 V付近にこぶが見える?

①②に関して、原因検討を進める

可能性: プロセス中の有機物残渣

(他に考えられる原因はありますか?)

その他検討項目:

- 測定雰囲気(ノイズ抑える)
- 電極設置方法(ワニ口での固定具合で応答が変わる)
- 電極面積の規定

受精卵活性測定デバイス（電極面積算出）

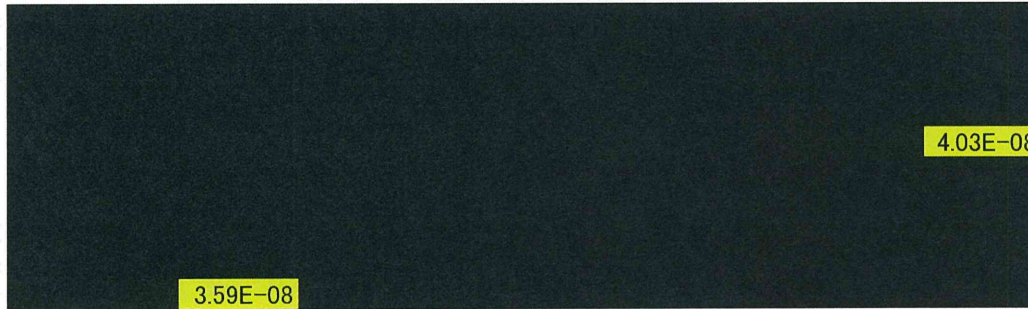
バンド電極は限界電流値に時間依存性があるため、CA(クロノアンペアメトリー)の式で得られる定常電流値を算出しています。

バンド電極理論式

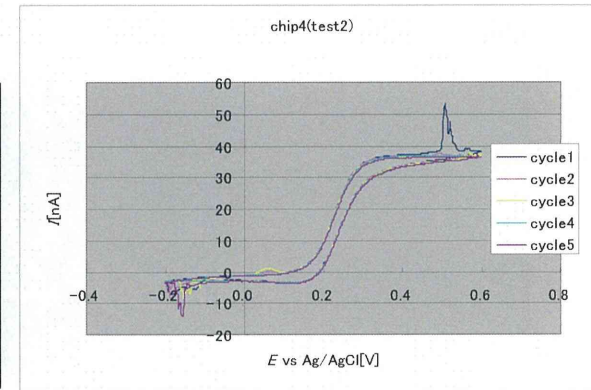
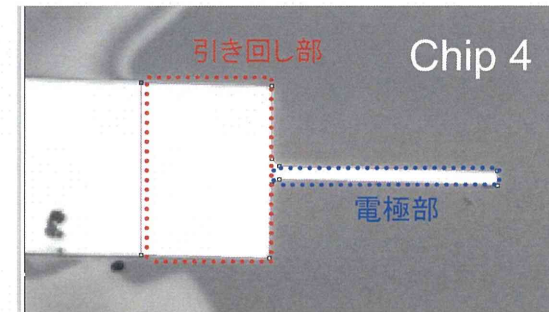
$$i = 2\pi L n F D c / [\ln(4Dt/r^2)] \quad (1)$$

i : 限界電流値 [A]
 n : 反応電子数
 F : ファラデー定数
 D : 拡散係数
 t : 時間
 a : 電極半径[cm]
 c : バルク濃度 [mol/cm³]

使用パラメータ



* 初回トライ分の試料は引きまわしの被覆が不十分でした。次回測定分(25日測定)はその部分が改善できています。ご容赦下さい。27日には、できるだけ状態のよいものを揃えてお持ちする予定です。



10 mmol/L K₄[Fe(CN)₆], 0.1 M KCl
 $V = 20 \text{ mV/sec}$

- ・理論値と実測値で近い値が得られているため、電極としての機能に問題がないと判断
- ・CA測定(時間依存性測定)を合わせて検討中

現状での課題点

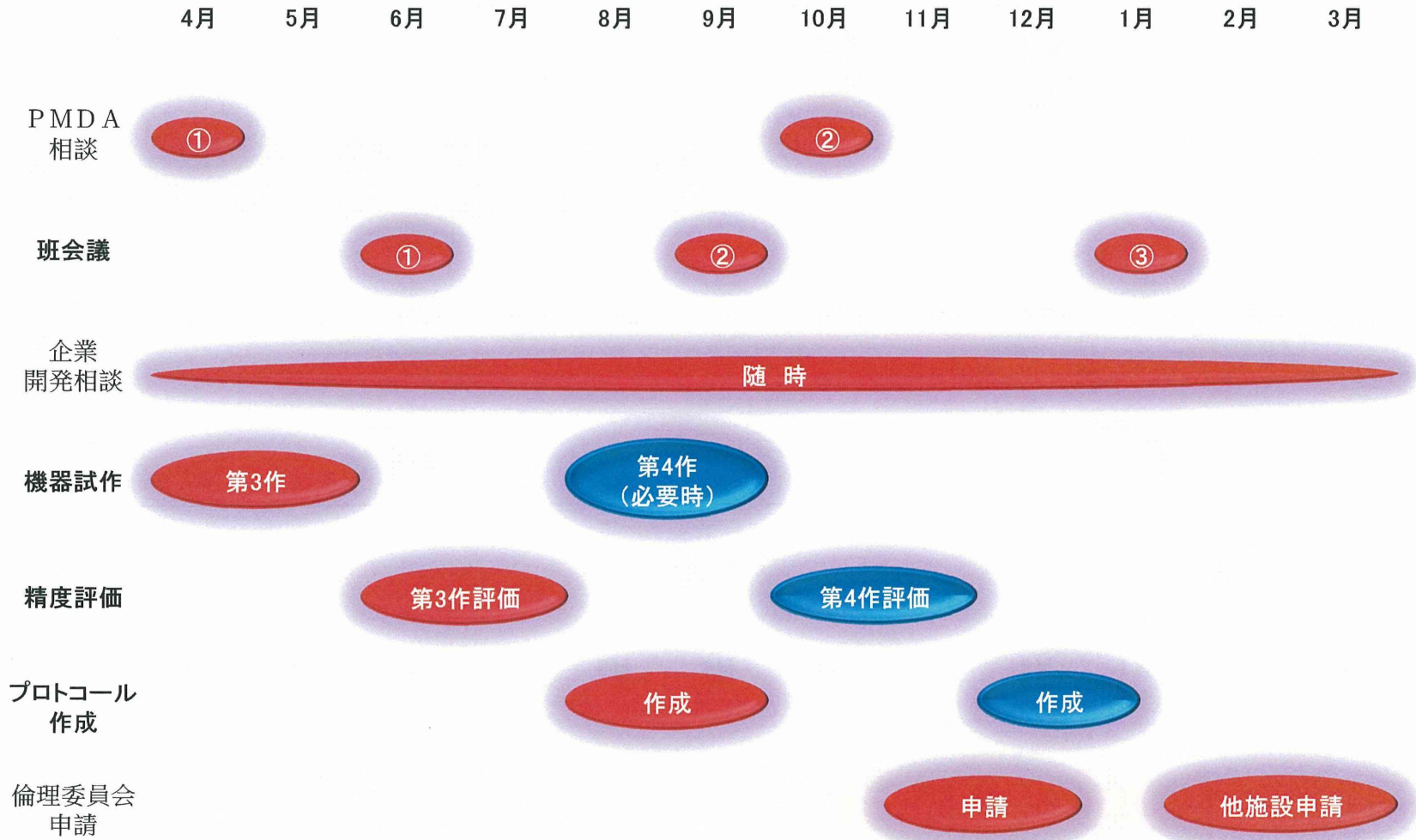
- 課題点1:電極面積の規定(小サイズ化)
- 課題点2:電極表面汚れ
- 課題点3:CV波形の変動

今後の検討

今回の測定において、課題はあるものの、CV測定に関しては一定の目処がついたと思っている。

今後は、受精卵活性の測定感度を最大化するための、電極配置・電極距離の検討を進めていく

平成25年度



平成26年度

4月 5月 6月 7月 8月 9月 10月 11月 12月 1月 2月 3月

PMDA相談

①

②

班会議

①

②

③

機器試作
仕様決定

随時

余剰卵による
臨床研究

多施設(8施設)共同研究

学会発表

国際
学会

国際
学会

国内
学会

論文投稿

論文作成・投稿

(資料 7)

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

座長 東北大学 宇都宮裕貴

① 開会の辞

山形大学 阿部 宏之

② チップ試作品の開発状況

東北大学 宇都宮裕貴

③ 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

④ 各施設における進捗状況

各施設担当者

⑤ 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

平成 25 年 6 月 8 日山形市において開催された
第 135 回東北連合産科婦人科学会学術講演会内において
第 9 回胚細胞呼吸機能研究会会議が開催されました。

宇都宮裕貴准教授による研究機器の開発状況や各関連機関との情報交換の状況が発表されました。それに伴い新規の機器開発へ向け培養液の条件設定など、詳細な情報交換が行われていました。また、各大学間の進捗状況等の確認が行われました。



厚生労働省科研費の取得もあり、本会議も 9 回目を迎えることが出来ました。成果も着々と上がっております。最新の知見を吸収しながら世界へ向けて新しい情報発信の場となる可能性を大いに秘めた、大変有意義な討論が行われました。



次回は 9 月、北日本連合(北海道旭川市)で開催予定です。

平成25年度厚生労働省科研費について

平成25年6月8日
宇都宮 裕貴