

蛍光酸素センサを用いたオンチップ単一卵子酸素計測



○鬼頭雅伸¹, 丸山央峰², 新井史人²
¹名古屋大学大学院工学研究科機械理工学専攻
²名古屋大学大学院工学研究科マイクロ・ナノシステム工学専攻



卵子近傍の酸素濃度分布をリアルタイムに計測する

Background & Purpose

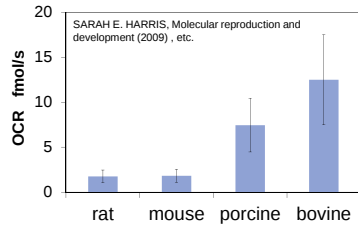
卵子及び胚の活性評価

バイオテクノロジーの中での大きな柱の一つ
 ヒト不妊治療や家畜生産
 クローン動物作製, 等

卵子の評価方法

- 形態学的評価 → 主観的な評価
- 酸素消費量評価 (OCR) → 定量的評価
- 機械的特性評価

動物の卵子の酸素消費量の比較

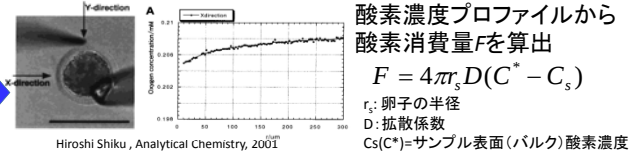


卵子の種類(動物種, サイズ, 等)に依存(数fmol/s~十数fmol/s)

微量かつ高感度の酸素計測技術が必要

卵子酸素計測技術の従来手法

走査型電気化学顕微鏡 (SECM) を用いた計測



上記手法の課題

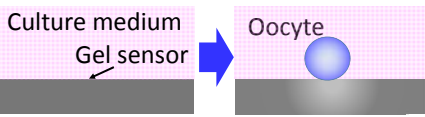
- 操作時にプローブを折りやすい
- 計測時に電極が酸素を消費
- 計測時間がかかる(スキャン)

酸素濃度分布をリアルタイムで計測する手法を提案する。

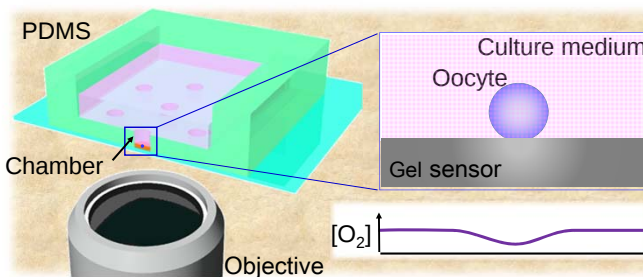
Concept

蛍光酸素センサによる酸素濃度分布一括計測

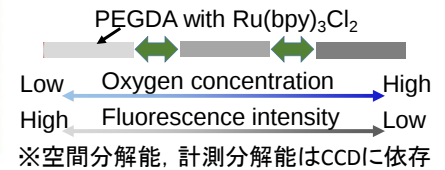
酸素濃度計測プロセス



1. 卵子無し及び有りの蛍光画像を取得
2. 蛍光強度の比から各ピクセルの酸素濃度を計算



Fluorescence indicator
 Tris(2,2'-bipyridyl) dichloro-Ruthenium(II) hexahydrate ($\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$) (ex. 561 nm) (em. 620 nm)

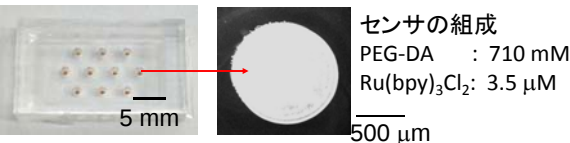


Fabrication

作製プロセス

1. Spincoat of PEGDA with $\text{Ru}(\text{bpy})_3\text{Cl}_2$
2. Mask exposure
3. Development and rinse
4. Spincoat of PDMS
5. Bond of sensor and chamber
6. Completion

作製したチャンバ及び蛍光酸素センサ



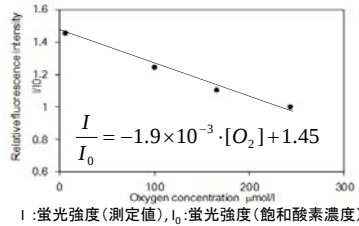
チャンバ直径: 1.4 mm 直径: 1 mm
 チャンバ深さ: 3 mm 厚み: 200 μm

使用CCD: iXon Ultra

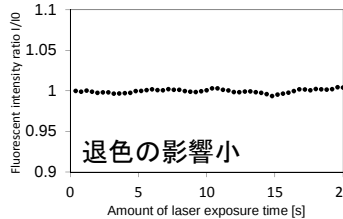
A/D変換: 16 bit
 画素数: 512 × 512 pixel
 計測分解能: 10 nM以下
 空間分解能: 3.3 μm

Experiment

蛍光センサの酸素較正

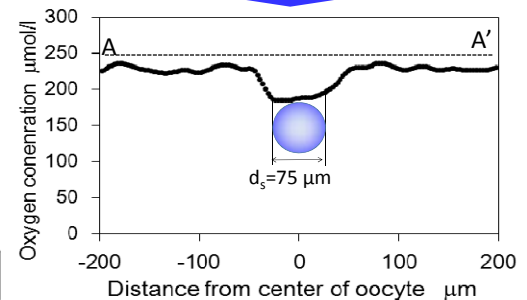
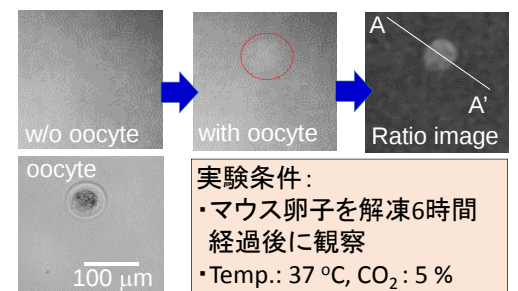


蛍光センサの退色



卵子近傍の酸素濃度分布計測に成功
 測定時間: 0.8秒(画像取得時間)

マウス卵子近傍の酸素濃度分布計測



Conclusions

- ・卵子近傍の酸素濃度分布を, 蛍光センサにより計測することに成功した。(空間分解能: 3.3 μm , 計測分解能: 10 nM, 測定時間: 0.8 s).
- ・今後は酸素濃度分布から消費速度への変換アルゴリズムを構築する。