

運動良好精子選別装置

QUALIS
クオリス
SPERM SORTER

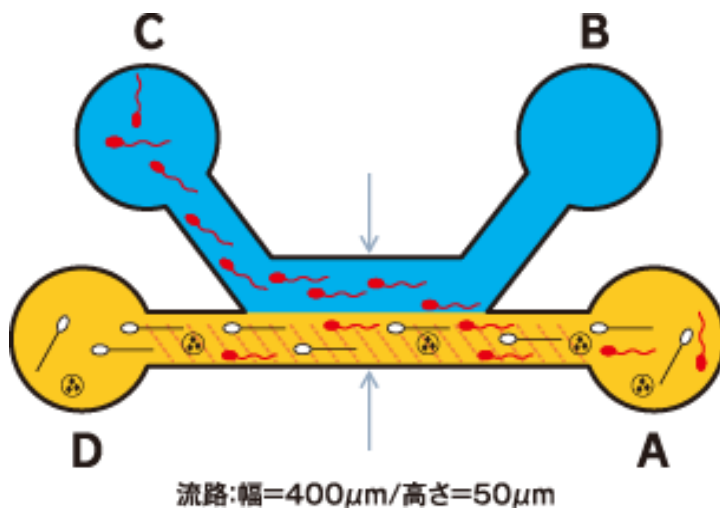
取扱説明書

このたびは(株)メニコンの商品をお買い上げいただき、誠に有難うございます。
装置をお使いになる前に、本説明書をよくお読みになってからご使用ください。
また、末永くご愛用いただくために、この取扱説明書は必ず大切に保管していただきますようお願いいたします。

【使用上の注意】

- ①本製品は精子選別の目的以外に使用しないでください。
- ②製品に破損・割れ・ヒビ・歪み・包装の破れやピンホール・異物の混入・その他の異常が認められた場合には、使用しないでください。
- ③本製品は、プラスチック製品の特性上、外部からの過度な圧力や、高湿度により歪みや破損を生じることがありますので、過度な圧力・湿度をかけないように、使用・保管してください。
- ④包装を開封した後は、速やかに使用ください。
- ⑤本製品の使用は1回限りです。再使用しないでください。
- ⑥使用後の器具などは、エタノール等で消毒処理をしてから、各自治体の廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等に区別してください。

【スpermソータ「クオリス」の原理】



スpermソータは、A、B、C、Dの4つのチャンバーとそれぞれのチャンバーをつなぐ流路で構成されています。Aに希釈した精液を、B、C、Dに培養液を注入すると、微細な流路で発生する流れはほとんど混ざらず、層流と呼ばれる2つの流れ（A→D、B→C）が形成されます。Aから流れる精子のうち、運動良好精子のみが層流界面を渡るため、Cには運動良好精子のみが集まることとなります。

■ スpermソータ「クオリス」各部の名称

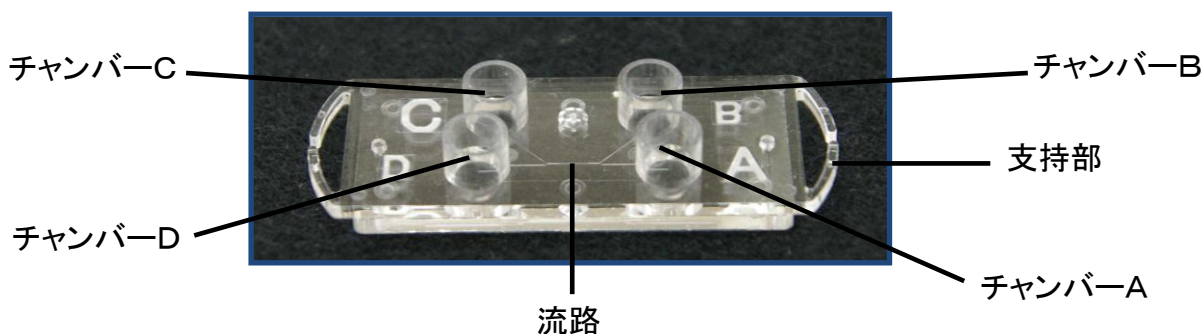


図1: スpermソータ「クオリス」全体像

■ 必要器具

直径60mm ディッシュ : BD製 カタログ番号 351007、353002、353802、353652
と同等品

可変動式マイクロピペット : NICHIRYO 製 Nichipet ExCE200 と同等品

可変動式マイクロピペット : NICHIRYO 製 Nichipet Ex CE10* と同等品

※数 μ Lを正確に量り取る必要はありませんので、100 μ L用のピペットでも代用は可能です。

可変動式ピペット用チップ : 各ピペットに適したもの

倒立位相差顕微鏡あるいは実体顕微鏡 : 40倍~100倍が観察できるもの

異物除去フィルター : ニプロ製 ART用異物除去フィルター (オプション)

精子調整用チップ : ニプロ製 ニプロART-TIP (オプション)

ロック付タイプシリンジ : テルモ製 SS-05LZ と同等品

(シリンジの容量はろ過する容量に合わせてご準備ください)

I. 事前準備

1. 培養液の準備

①精液の希釈ならびに精子選別時に使用する培養液を調整します。精子をCO₂インキュベータ外で操作する際に用いる培養液に代替血清あるいはアルブミンを添加あるいは含んだものをご使用ください。以下の表1の培養液は適用を確認しています。

表1. 推奨する培養液

培養液	メーカー	代替血清*の添加
Modified HTF Medium-HEPES	Irvine Scientific	必要
Sperm washing Medium		不要
global w/HEPES	Life Global	必要
HTF w/HEPES		
HTF Xtra w/HEPES		
G-MOPS™	Vitrolife	必要
G-MOPS™ PLUS		不要

※Serum Substitute Supplement (Irvine Scientific) を10%添加

②調整した培養液は37℃程度に保温し、使用します。

2. 精液の準備

①採精した精液を、液状化させます。

②液状化した精液を培養液で2倍に希釈し、ピペティングで十分混合します。希釈後の液量が500μL程度あれば問題ありません。

③異物除去のため、孔径20μmのフィルター（ニプロART用異物除去フィルター、ニプロ製）により、希釈した精液をろ過します。異物が流路を塞ぐ可能性がありますので、この操作を実施することを推奨します。

④使用時まで希釈した精液は37℃程度に保温します。

II. スパームソータ クオリスの準備

1. クオリスを直径60mmディッシュ^{注1)}に図2のように支持部でディッシュ内に固定します。



💡 注1: BD製 カatalog番号 351007、353002、353802、353652 と同等のものを推奨します。

図2：クオリスのディッシュへの固定

クオリスを斜めにディッシュ内に挿入させ (a)、ディッシュ底面にクオリスの平面部を合わせて両親指で押し込み (b)、両側の支持部で固定します。

2. 各チャンバーと流路を濡らします。

チャンバーおよび流路の親水性を高める操作ですので、必ず行ってください。

- ① ピペットでチャンバーAの流路入り口付近 (☆印付近) に培養液を $100\mu\text{L}$ 注入します (図3)。顕微鏡下で、流路内が培養液で満たされていること^{注2)}、ならびに培養液がチャンバーB、C、Dに到達していることを確認します。

💡 注意2：稀に流路内に気泡が発生することがあります。

【気泡が流路内を塞がない極小の場合】

精子選別操作には問題ありませんので、次の操作に進んでください。

【気泡が流路内を塞いでいる場合】

- ・しばらく静置しておくことで消失することがあります。
- ・チャンバーAの流路入り口付近 (図3bの☆付近) から流路方向に向かって培養液をゆっくり押し出すように、ピペティングを繰り返すことで、流路外へ気泡を押し出します。

上記の手順を踏んでも流路を塞いでいる気泡を除けない場合は、使用を中止してください。

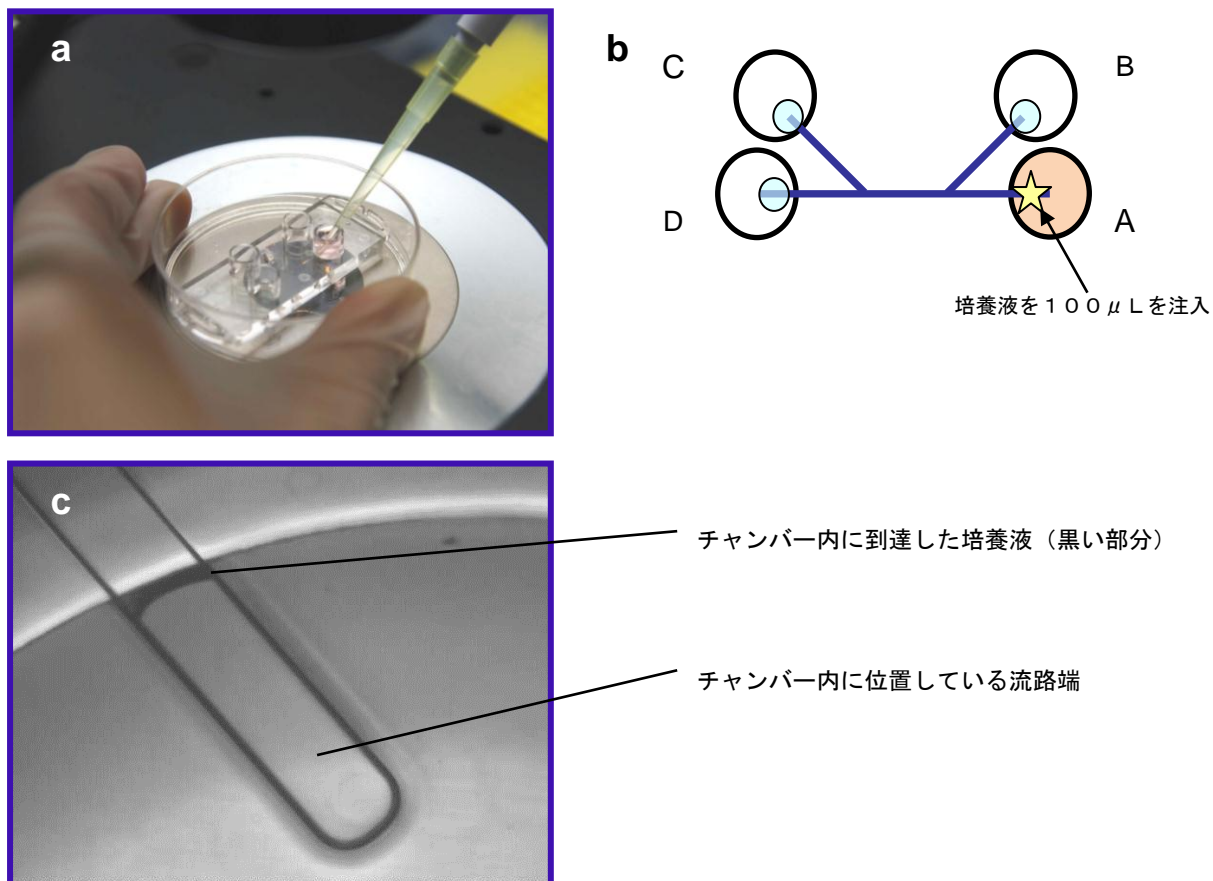


図3：チャンバーAへの培養液の注入

流路入り口付近から培養液を注入します (a)。そして、顕微鏡下で流路が培養液で満たされていることとチャンバーB、C、Dに培養液が到達していること (b)を確認します。培養液がチャンバーCに到達している状態を写真 (c) に示します。

- ② チャンバーB、C、Dにも培養液をそれぞれ **100 μL** ずつ注入します (図4)。
- ③ 全てのチャンバーから培養液をピペットで回収します。



図4：チャンバーへの培養液の注入

クオリスは操作のしやすい向きにご使用ください。

Ⅲ. 運動良好精子選別作業

1. 培養液、精液の注入

- ①チャンバーCとDの流路入り口付近（図5☆付近）に培養液を**20 μ L**ずつ注入します。
- ②チャンバーBの流路入り口付近（図5☆付近）に培養液を**100 μ L**注入します。

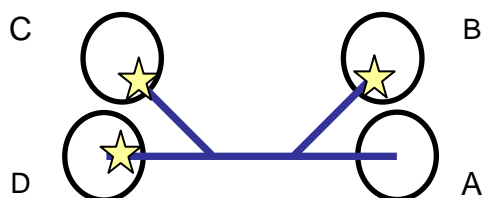


図5：各チャンバーの培養液の注入箇所

- ③チャンバーAに希釈した精液を**65 μ L**を注入します。

2. 層流の調整

- ①顕微鏡にてA-B合流点を40倍程度に拡大して観察します（図6）。

チャンバーAからの流れが流路幅の**40%程度**になるように、チャンバーBから培養液を回収します。

チャンバーBからの培養液を回収する際は、Aからの流れの幅を確認しながら、数 μ Lずつ回収します（図7）。（p10の【層流の調整方法】を参照）

💡「層流」とは2つの流れが交じり合うことなく、整然とながれている状態です。

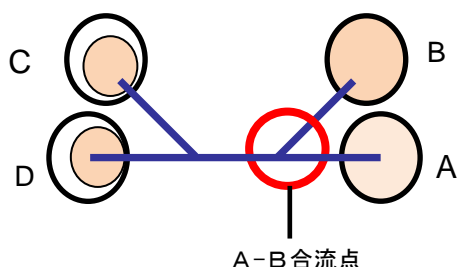
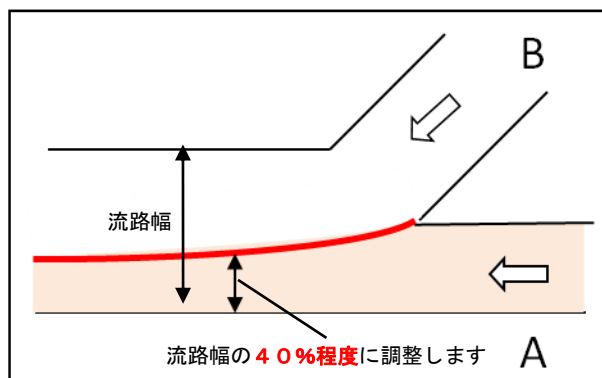
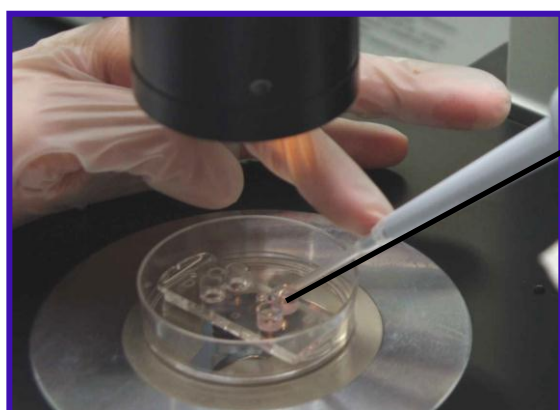


図6：A-B合流点の観察

右図のようにA-B合流点を拡大し、Aからの流れの幅を確認してください。



(A-B合流点拡大図)



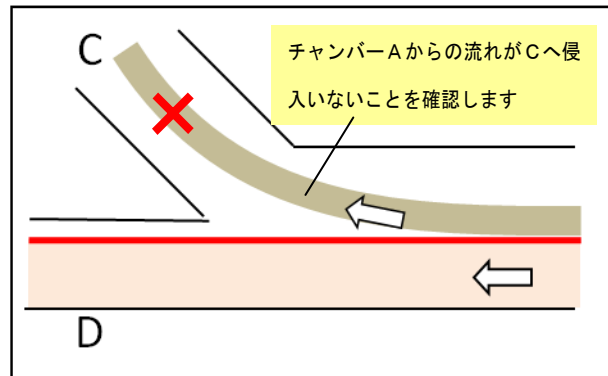
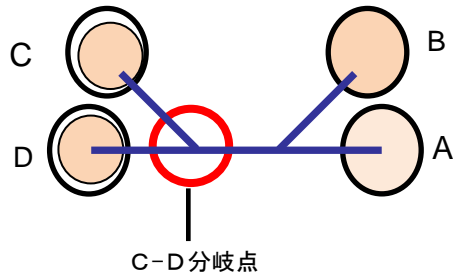
チャンバーB

図7：チャンバーBからの培養液の回収

チャンバーAからの流れの幅を確認しながら、数 μ Lずつ回収します。通常15 μ L程度回収することで適した層流幅になります。

②顕微鏡にてC-D分岐点を観察します（図8）。

チャンバーAからの流れがチャンバーDへのみ侵入していれば、層流の調整操作は完了です。



（C-D分岐点拡大図）

図8：C-D分岐点の観察

右図のようにC-D分岐点を拡大し、チャンバーAからの流れがチャンバーCに侵入していないことを確認します。

3. 運動良好精子の選別

層流調整操作完了後、10分間^{注3)} 静置します。図9のように、乾燥防止、落下菌やゴミの混入防止のため、シャーレに蓋を被せてください。

また、シャーレの蓋にはIDナンバー等の記入やバーコードの貼付が可能です。



注3：精液検査の結果、精子濃度や運動率が著しく低い場合には精子選別時間を長くします。

30分間は層流が安定して形成されることは確認済みです。



図9：クオリスを固定したシャーレに蓋をした写真

IV. 選別精子の回収

- ①顕微鏡にてC-D分岐点を観察し、チャンバーAからの流れがチャンバーCへ侵入していないことを確認します。
- ②**チャンバーC**から液を全量回収します。なお、選別精子は流路出口付近ならびにチャンバー壁面付近(図10)に貯留する傾向がありますので、それらの箇所を中心に回収^{注4)}を行います。



注4：チャンバーCから25 μ L程度の液が回収できます。回収操作は複数回に分けるのではなく、できるだけ1度に全てを吸いきるようにしてください。チャンバーCの液量が減ると層流のバランスが崩れ、チャンバーAからの流れがチャンバーCへ侵入してきます。

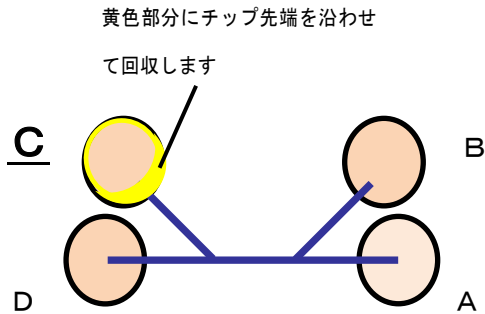


図10：チャンバーCからの選別精子の回収

右写真のようにチャンバーCから回収しやすいようにクオリスの向きを変えます。そして、少しディッシュを傾け、壁面に沿ってチップを沿わせて全量回収します。写真では100 μ L用のチップを用いていますが、可能であれば先端の細いチップを推奨します。

【層流の調整方法】

1: チャンバーAからの流れの幅が細い場合

チャンバーBから数 μ Lずつ培養液を回収し、チャンバーAからの流れの幅が流路幅の40%程度になるように調整します（図11）

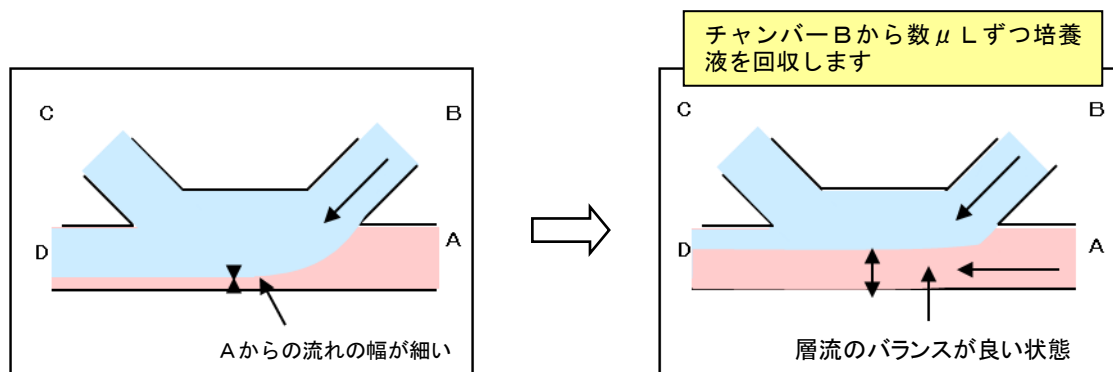


図11

2: チャンバーAからの流れの幅が太い場合

チャンバーBに数 μ Lずつ培養液を注入し、チャンバーAからの流れの幅が流路幅の40%程度になるように調整します（図12）。

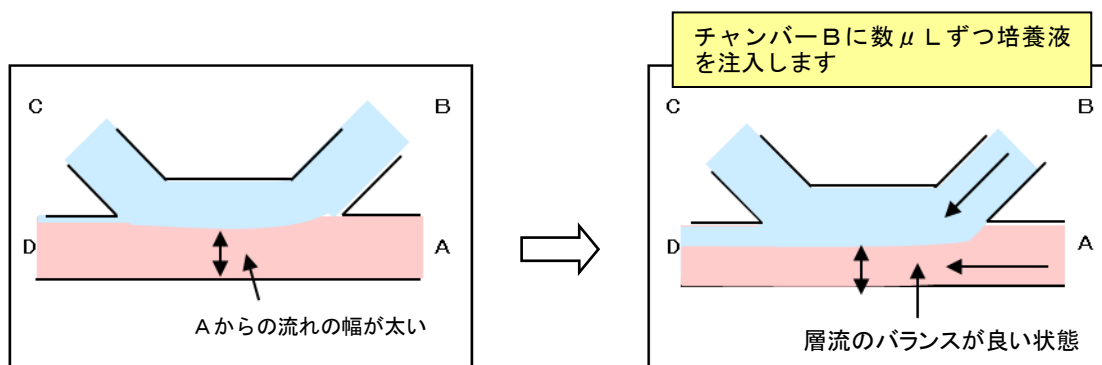


図12

3: チャンバーAからの流れがチャンバーCに侵入している場合

このような場合（図13）は使用を中止し、新しいクオリスをご使用ください。

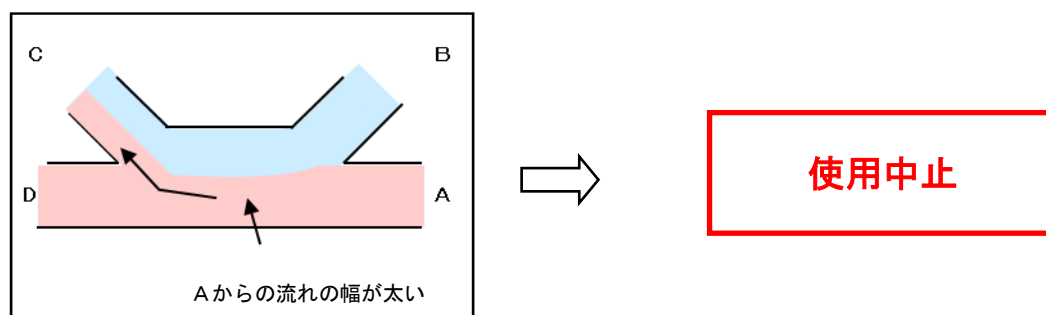
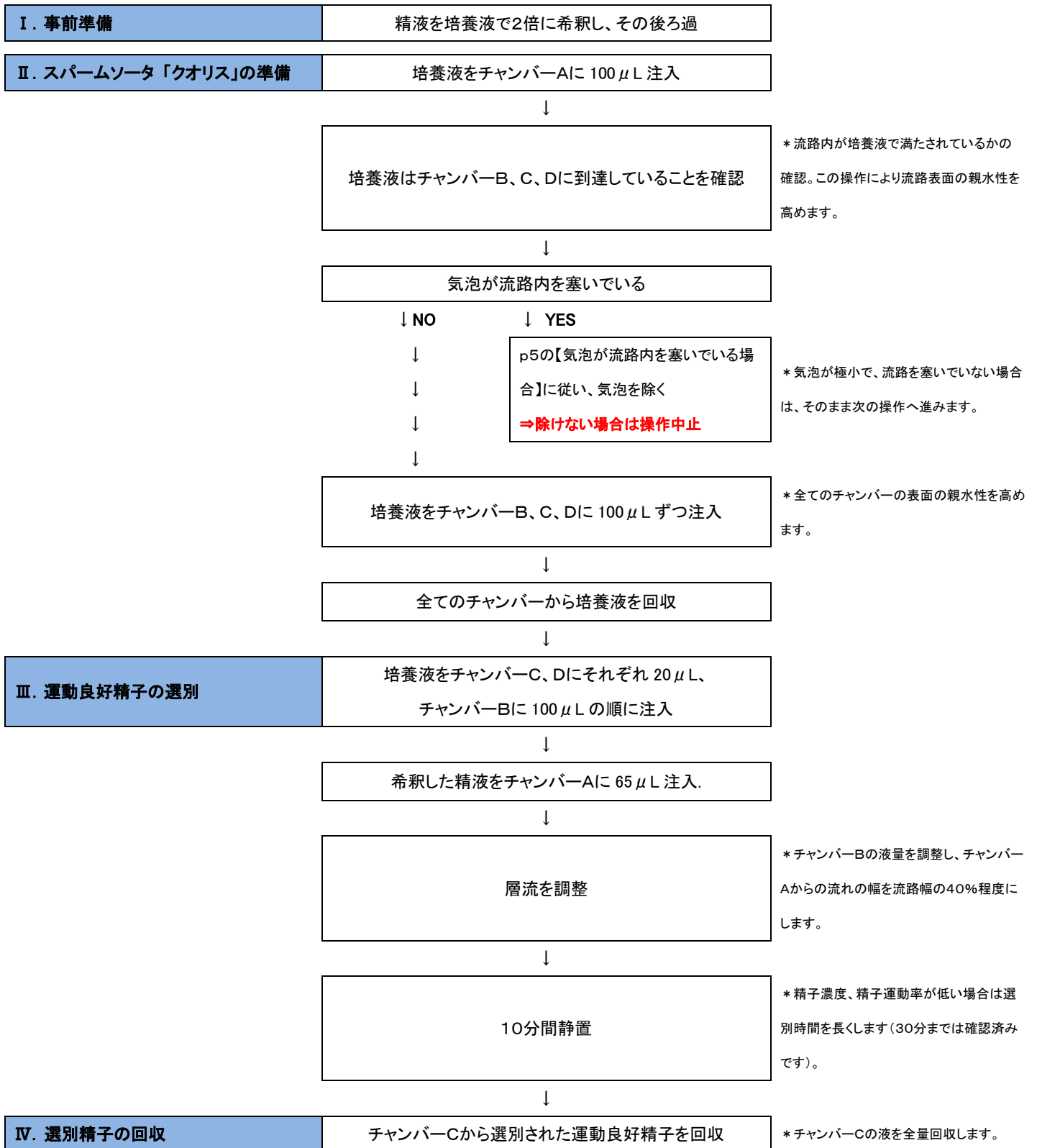


図13

フローチャート



スパームソーター「クオリス」Q&A

Q : スパームソーター「クオリス」の素材は何ですか？

A : 材料として医療機器用として生体に対して安全なシクロオレフィンポリマーを使用しています。

Q : スパームソーター「クオリス」は、プラスチック製とのことですが、これは使い捨てである、という認識でよろしいのでしょうか。

A : 使い捨てとなります。

Q : ディッシュはどのメーカーのものでも使用できますか？

A : 直径60mmディッシュのサイズはメーカーごとに異なり、クオリスの操作感も若干異なります。BD製 カタログ番号 351007、353002、353802、353652 の他に、IWAKI 製 品種コード 1010-060、3010-060、住友ベイクライト製 品番 MS-10600、MS-11600 についてはクオリスが固定されることは確認しております。

Q : 精液の原液を入れることは可能ですか？

A : 原液では粘度が高く、層流を作ることができないので、精液を2倍に希釈し、使用ください。

Q : チャンバーCでの回収液量はどれくらいですか？

A : 約25 μ L程度の液量が回収されます。

Q : チャンバーCで回収された運動精子数はどれくらいですか？

A : サンプルの運動率が50%程度の場合、1000個程度の運動精子を回収することができます。なお、回収される運動精子数はサンプルの精液所見によって変動します。

Q : 処理時間はどれくらいですか？

A : Aに精液希釈液注入後、おおよそ10分前後となります。

Q : ヒト以外での精子の実績はありますか？

A : ヒト以外の動物ではまだ実績がありません。

お問い合わせ	株式会社メニコン ライフサイエンス部 名古屋市西区市場木町 390 番地 メニコンビジネスパークビル TEL: 052-325-7385 FAX: 052-325-7386 URL: www.menicon-lifescience.com
--------	---