(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2015 年 12 月 23 日 (23.12.2015)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2015/192352 A1

(51) 国际专利分类号:
C12N 5/073 (2010.01) *G01N 33/68* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2014/080289

(22) 国际申请日: 2014 年 6 月 19 日 (19.06.2014)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: **湖南光琇高新生命科技有限公司 (GUANG XIU GAO XIN LIFE SCIENCE CO. LTD. HUNAN)** [CN/CN]; 中国湖南省长沙市岳麓区麓云路八号, Hunan 410000 (CN)。 **中南大学 (CENTRAL SOUTH UNIVERSITY)** [CN/CN]; 中国湖南省长沙市岳麓区麓山南路 932 号, Hunan 410006 (CN)。

(72) 发明人: **林戈 (LIN, Ge)**; 中国湖南省长沙市岳麓区麓云路八号, Hunan 410000 (CN)。 **卢光琇 (LU, Guangxiu)**; 中国湖南省长沙市岳麓区麓云路八号, Hunan 410000 (CN)。 **杨舒亭 (YANG, Shuting)**; 中国湖南省长沙市岳麓区麓云路八号, Hunan 410000 (CN)。

(74) 代理人: **长沙正奇专利事务所有限责任公司 (CHANGSHA ZONEKEY PATENT LAW FIRM)**; 中国湖南省长沙八一路 59 号, Hunan 410001 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

WO 2015/192352 A1

(54) Title: GRADE CLASSIFICATION METHOD FOR EVALUATING IN-VITRO FERTILIZATION TREATMENT EMBRYO ACCORDING TO CLEAVAGE BEHAVIORS

(54) 发明名称 : 一种根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法

(57) Abstract: Disclosed is a grade classification method for evaluating an in-vitro fertilization treatment embryo according to cleavage behaviors. In the present invention, in a case in which a human embryo cell is interfered and not damaged, data of dynamic observation on a human embryo is obtained by using a time-lapse imaging technology, and abnormal cleavage behaviors of the human cleavage-stage embryo of in-vitro fertilization are collected and described in detail and are divided into 7 types. The qualitative embryo grade classification method with little subjectivity is established according to the degree of severity of abnormal cleavage, the blastomere range affected by the abnormal cleavage behaviors and the occurrence period of the abnormal cleavage behaviors. The method can effectively screen out a cleavage-stage embryo with optimal blastocyst development potential.

(57) 摘要: 本发明公开了一种根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法。本发明在不干涉人类胚胎细胞也不破坏人类胚胎细胞的情况下，利用时差成像技术对人类胚胎进行动态观察的数据，对体外受精的人类卵裂期胚胎出现的分裂异常行为进行了收集及详细的描述，并分为 7 种类型。根据异常分裂的严重程度、异常分裂行为累及的卵裂球范围以及异常分裂行为的发生时期，建立了一种定性的，主观性小的胚胎等级分类方法，该方法能有效的筛选出具有最佳囊胚发育潜能的卵裂期胚胎。

一种根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法

技术领域

本发明涉及辅助生殖技术中接受体外受精治疗患者胚胎的评估与用于移植的优质胚胎的选择，具体是对治疗中经时差成像技术观察的胚胎依据分裂行为的异常模式进行等级划分，筛选胚胎进行移植的方法。

背景技术

体外受精-胚胎移植（IVF-ET）已成为不孕症治疗的常规手段。传统的方法往往依赖于同时移植多个胚胎以提高妊娠率，但多胚胎移植导致多胎妊娠率增高，使母亲和胎儿的医源性并发症风险增加，可行的办法是建立一种有效的胚胎评估方法在卵裂期选择优质胚胎进行移植。传统的卵裂期静态形态学胚胎筛选体系是利用原核形态，第三天胚胎卵裂球数目、对称性、碎片多少等对胚胎进行评估和选择。但该方法存在评估指标单一，主观性大，无法准确判断胚胎发育潜能的缺点。时差技术（time-lapse）是一种瞬时曝光连续拍摄的成像技术，利用该技术能获取胚胎发育各个阶段的形态以及各事件发生的特定时间，并将所有记录照片合并成动态视频，实现对胚胎发育过程的全程监控。而目前已有的利用时差技术的形态动力学胚胎评估筛选方法是利用胚胎发育过程中的卵裂时间（如受精至五细胞形成的时间）、卵裂同步性（如从三细胞形成至四细胞形成的时间）等指标对胚胎进行评估。但是该方法存在如下缺点：形态动力学指标受多种因素，如培养系统、病人年龄、卵子成熟情况、授精方式、促排方案等的影响。仅有少数指标得到一致认可，且同一指标的范围存在一定波动。因此形态动力学指标在各实验室无法通用。

发明内容

本发明旨在克服现有技术的不足，提供一种根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法。

为了达到上述目的，本发明提供的技术方案为;

所述根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法是将受精后第一天的胚胎移入胚胎培养基中，于培养箱的时差系统摄像头下观察受精后第一至五天的胚胎卵裂情况，设置摄像头拍摄频率为 5-15min/次；然后按如下步骤对胚胎进行等级分类：

（1）将胚胎分裂行为分为如下八种：

①正常分裂；②分裂异常；③不等大；④卵裂球碎裂；⑤大碎片；⑥异常胞质运动；

⑦发育阻滞；⑧分裂次序紊乱；

（2）根据各分裂行为对囊胚形成的影响程度将胚胎的上述八种分裂行为归纳为如下两类：

I 类分裂行为：正常分裂、异常胞质运动、不等大、大碎片对囊胚形成的影响程度小于 50%；

II 类分裂行为：发育阻滞、分裂异常、分裂次序紊乱、卵裂球碎裂对囊胚形成的影响程度大于等于 50%；

（3）根据步骤（1）和步骤（2）将胚胎分为 A、B、C、D、E、F 六个等级：

A 级：第一次（出现在受精后第一至二天，从一细胞至二细胞）、第二次（出现在受精后第二至三天，从二细胞至四细胞）、第三次卵裂（出现在受精后第三至四天，从四细胞至八细胞）均发生正常分裂行为的胚胎；

B 级：第一、二、三次卵裂中至少发生一次除正常分裂行为外的 I 类分裂行为（异常胞质运动、不等大、大碎片）的胚胎；

C 级：第一、二次卵裂发生 I 类分裂行为，第三次卵裂发生 II 类分裂行为（发育阻滞、分裂异常、分裂次序紊乱、卵裂球碎裂）的胚胎；

D 级：第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时其中一个细胞（部分）发生 II 类分裂行为的胚胎；

E 级：第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时两个细胞（全部）均发生 II 类分裂行为的胚胎；

F 级：第一次卵裂发生 II 类分裂行为的胚胎；

其中，A 级胚胎为最优选择的用于移植的胚胎；若没有 A 级胚胎则选择 B 级胚胎用于移植；若没有 A 级和 B 级胚胎，则选择 C 级胚胎用于移植；D、E、F 级胚胎不被用于移植。

上述技术方案中，所述正常分裂是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，一次有丝分裂形成 2 个直径相差 1/5 以下的子细胞及占原有细胞体积 10%以下的散在、无细胞核碎片；

分裂异常是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，一次有丝分裂形成 3 个或 3 个以上直径相差 1/5 以下的子细胞；

不等大是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，分裂后形成的 2 个子细胞直径相差 1/5 以上；

卵裂球碎裂是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，分裂形成的子细胞碎裂成

4-10 块直径为原有细胞直径 1/3 以下的无细胞核碎片或分裂过程中产生占原有细胞体积50%以上的散在、无细胞核碎片；

大碎片是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，分裂过程中产生两个直径相差1/5 以下的子细胞及 1-2 块直径为子细胞直径 1/3 至 1/2 的无细胞核碎片或占原有细胞体积 10%至 50%的散在、无细胞核碎片；

异常胞质运动是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，分裂过程中胞膜出现凹陷的卵裂沟但卵裂球不分裂现象或出现胞质扭曲、旋转等不正常运动；

发育阻滞是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，卵裂球发育停滞，不再继续进行有丝分裂形成相应的子细胞；

分裂次序紊乱是指胚胎的分裂情况为：受精后一至五天内，分裂的先后顺序发生紊乱；正常情况下，A 细胞经过一次有丝分裂形成 A1、A2 两个子细胞，A1 细胞经过有丝分裂形成 A11 及 A12 两个子细胞，A2 细胞经过有丝分裂形成 A21 及 A22 两个子细胞，以此类推；分裂次序紊乱，A 细胞经过一次有丝分裂形成 A1、A2 两个子细胞，A1 细胞经过有丝分裂形成 A11 及 A12 两个子细胞，在 A2 细胞尚未分裂时，A11 细胞或 A12 细胞提前有丝分裂，形成相应的两个子细胞，随后 A2 细胞发生有丝分裂形成相应的两个子细胞。

与现有技术相比，本发明的有益效果为：

（1）利用时差成像技术对人类胚胎进行动态观察的数据，对体外受精的人类卵裂期胚胎出现的分裂异常行为进行了收集、描述及分类，用于对体外受精治疗胚胎进行评估。

（2）根据分裂行为对胚胎发育潜能影响的严重程度对分裂行为进行分类，将对囊胚形成的影响程度小于 50%的分裂行为归为一类，定义为 I 类分裂行为；将对囊胚形成的影响程度大于等于 50%的分裂行为归为一类，定义为 II 类分裂行为。

（3）结合不同的卵裂时期及分裂行为在胚胎中的涉及范围，建立了一种根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法。

总之，本发明的目的在于在不干涉人类胚胎细胞也不破坏人类胚胎细胞的情况下，利用时差成像技术对人类胚胎进行动态观察的数据，对体外受精的人类卵裂期胚胎出现的分裂异常行为进行了收集及详细的描述，并分为 7 种类型。根据异常分裂的严重程度、异常分裂行为累及的卵裂球范围以及异常分裂行为的发生时期，建立了一种定性的，主观性小的胚胎等级分类方法，能有效的筛选出具有最佳囊胚发育潜能的卵裂期胚胎。

具体实施方式

实施例 1

将该方法运用于临床接受体外受精治疗患者胚胎的评估，胚胎在体外培养过程中运用常规内置于培养箱中的时差成像系统进行观测。设置拍摄频率为 5min/次，曝光时间 70ms/次。受精后第一天将拟选用胚胎均移入备好 G1.5 胚胎培养基的 3x3/4x4WOW 培养皿培养。将含胚胎的 WOW 培养皿置于时差系统摄像头下，在受精后第五天使用卵裂行为学胚胎等级分类模型（图 1）对胚胎进行评估。

在 345 个正常受精胚胎中，第一、二、三次卵裂发生正常分裂行为的有 96 个，被评为 A 级胚胎；第一、二、三次卵裂中至少发生一次除正常分裂行为外的 I 类分裂行为的有 102 个，被评为 B 级胚胎；第一、二次卵裂发生 I 类分裂行为，第三次卵裂发生 II 类分裂行为的有 37 个，被评为 C 级胚胎；第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时其中一个细胞（部分）发生 II 类分裂行为的有 39 个，评为 D 级胚胎；第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时两个细胞(全部)均发生 II 类分裂行为的有 19 个，被评为 E 级胚胎；第一次卵裂发生 II 类分裂行为的有 52 个，评为 F 级胚胎。A、B、C、D、E、F 级胚胎囊胚形成率（囊胚形成是评价胚胎发育潜能的指标，在受精后第五天形成囊胚表明胚胎发育潜能佳，未形成囊胚表明胚胎发育潜能差）分别为 94.8%、85.3%、48.6%、51.3%、47.4%、21.2%，有递减趋势（$P<0.05$，有统计学意义），能区分胚胎的发育潜能。

实施例 2

将该方法运用于临床接受体外受精治疗患者用于移植的优质胚胎的选择，胚胎在体外培养过程中运用时差技术进行观测。在受精后第五天使用卵裂行为学胚胎等级分类模型（图 1）对胚胎进行评估及选择。将入组患者随机分为分裂行为学组及常规形态学组。两组培养箱环境均为 37℃，6%CO_2。

分裂行为学组使用本发明所述的方法，采用临床常规使用的内置于培养箱中的时差观测系统，设置拍摄频率为 5min/次，曝光时间 70ms/次。受精后第一天将拟选用胚胎均移入备好 G1.5 胚胎培养基的 3x3/4x4WOW 培养皿培养。将含胚胎的 WOW 培养皿置于时差系统摄像头下，连续拍摄至移植之前。在移植当天使用卵裂行为学胚胎等级分类方法（图 1）对胚胎进行评价及选择。

常规形态学组对胚胎进行常规培养，受精后第一天将拟选用胚胎均移入备好 G1.5 培养基的培养皿培养。在移植当天使用常规形态学方法对胚胎进行评价及选择。

分裂行为学组共入选 20 名患者，1 人取消移植，共 19 人参与实验分析。19 人共有 194 个正常受精胚胎，平均每人 10.2 个正常受精胚胎。在 194 个正常受精胚胎中，第一、二、三次卵裂发生正常分裂行为的有 54 个，被评为 A 级胚胎；第一、二、三次卵裂中至

少发生一次除正常分裂行为外的 I 类分裂行为的有 57 个，被评为 B 级胚胎；第一、二次卵裂发生 I 类分裂行为，第三次卵裂发生 II 类分裂行为的有 33 个，被评为 C 级胚胎；第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时其中一个细胞（部分）发生 II 类分裂行为的有 22 个，评为 D 级胚胎；第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时两个细胞（全部）均发生 II 类分裂行为的有 10 个，被评为 E 级胚胎；第一次卵裂发生 II 类分裂行为的有 18 个，评为 F 级胚胎。每位患者选择 2-3 枚最优胚胎进行移植，选择胚胎时由 A、B、C、D、E、F 级依次进行，在没有 A 级胚胎的情况下才考虑选择 B 级胚胎，以此类推。在选择用于移植的 39 枚胚胎中，29 枚为 A 级胚胎，9 枚为 B 级胚胎，1 枚为 C 级胚胎。在 19 名参与实验分析的患者中，11 人移植的 2-3 枚胚胎均为 A 级胚胎，6 人移植至少 1 枚 A 级胚胎，2 人无 A 级胚胎可移植，移植 B 级或 C 级胚胎。

常规形态学组共入选 20 名患者，1 人取消移植，共 19 人参与实验分析。

胚胎移植后四周评价临床结局。与常规形态学胚胎选择方式相比，在每组各 20 例(均有 1 人取消移植)的情况下，分裂行为学胚胎等级评估方法帮助能提高胚胎植入率(69.2% vs. 42.1%，$P<0.05$，有统计学意义）与临床妊娠率（78.9% vs. 57.9%， $P>0.05$，无统计学意义）。两组参与者的基线特征和临床结局见表 1。

表 1 两组参与者的基线特征和临床结局

参数	分裂行为学组(n=20)	常规形态学组(n=20)	P 值
女方年龄（岁）	28.4±3.5	28.5±3.9	0.883
女方 BMI (kg/m^2)	21.4±2.3	21.1±1.8	0.678
不孕年限（年）	4.3±2.9	3.8±2.1	0.524
MII 卵子数（枚）	15.2±4.2	12.3±4.3	0.047
移植胚胎数	2.1±0.2	2.0±0	0.324
优质胚胎数	2.1±0.2	1.9±0.3	0.086
基础 FSH (IU/L)	6.5±1.5	6.6±1.5	0.834
基础 LH (IU/L)	4.7±1.8	4.7±1.9	0.943
基础 E_2 (pg/mL)	41.7±13.9	38.6±11.5	0.458

取消率（%）	5.0（1/20）	5.0（1/20）	1.000
临床妊娠率（%）	78.9（15/19）	57.9（11/19）	0.163
植入率（%）	69.2（27/39）	42.1（16/38）	0.017
多胎妊娠率（%）	73.3（11/15）	45.5（5/11）	0.149
流产率（%）	0（0/15）	9.1（1/11）	0.234

权 利 要 求

1、一种根据分裂行为对体外受精治疗胚胎进行评估的等级分类方法，其特征在于，所述方法是将受精后第一天的胚胎移入胚胎培养基中，于培养箱的时差系统摄像头下观察受精后第一至五天的胚胎卵裂情况；然后按如下步骤对胚胎进行等级分类：

（1）将胚胎分裂行为分为如下八种：

①正常分裂；②分裂异常；③不等大；④卵裂球碎裂；⑤大碎片；⑥异常胞质运动；⑦发育阻滞；⑧分裂次序紊乱；

（2）将胚胎的上述八种分裂行为归纳为如下两类：

I 类分裂行为：正常分裂、异常胞质运动、不等大、大碎片对囊胚形成的影响程度小于 50%；

II 类分裂行为：发育阻滞、分裂异常、分裂次序紊乱、卵裂球碎裂对囊胚形成的影响程度大于等于 50%；

（3）根据步骤（1）和步骤（2）将胚胎分为 A、B、C、D、E、F 六个等级：

A 级：第一次、第二次、第三次卵裂均发生正常分裂行为的胚胎；

B 级：第一、二、三次卵裂中至少发生一次除正常分裂行为外的 I 类分裂行为的胚胎；

C 级：第一、二次卵裂发生 I 类分裂行为，第三次卵裂发生 II 类分裂行为的胚胎；

D 级：第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时其中一个细胞发生 II 类分裂行为的胚胎；

E 级：第一次卵裂发生 I 类分裂行为，第二次卵裂时两个细胞均发生 II 类分裂行为的胚胎；

F 级：第一次卵裂发生 II 类分裂行为的胚胎；

其中，A 级胚胎为最优选择的用于移植的胚胎；若没有 A 级胚胎则选择 B 级胚胎用于移植；若没有 A 级和 B 级胚胎，则选择 C 级胚胎用于移植；D、E、F 级胚胎不被用于移植。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2014/080289

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 5/073 (2010.01) i; G01N 33/68 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N; G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNPAT, EPODOC, WPI, CNKI, PubMed: embryo, quality, IVF, cleav+, blastomere

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SHI, Jiangxia. "Screening High Quality Embryos by Using Time-Lapse Technology" Chinese Master Dissertations Full-Text Database, Medical science and technology, 2014, no. 6, 15 June 2014 (15.06.2014) E068-25	1
A	CN 101495619 A (UNISENSE FERTILITECH A/S) 29 July 2009 (29.07.2009)	1
A	CN 103748216 A (UNISENSE FERTILITECH A/S) 23 April 2014 (23.04.2014)	1
A	WO 2007042044 AL (UNISCENSE FERTILITECH A/S) 19 April 2007 (19.04.2007)	1
A	WO 2013005012 A1 (CAMBRIDGE ENTERPRISE LIMITED) 10 January 2013 (10.01.2013)	1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 December 2014	05 January 2015
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer YANG, Jiaqian Telephone No. (86-10) 82245626

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2014/080289

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PATERNOT, Geodele et al."Computer-assisted embryo selection: a benefit in the evaluation of embryo quality?" Reproductive BioMedicine Online, no. 23, 20 May 2011 (20.05.2011), pages 347-354	1
A	VAN ROYEN, Eric et al. "Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer" Human Reproduction, vol. 14, no. 09, 31 December 1999 (31.12.1999) pages 2345-2349	1
A	TAN, Bingbing et al. "Predictive value on embryo development potential using a combined score for early cleavage, embryo morphology and growth rate", Maternal and Child Health Care of China, vol. 22, no. 19, 31 December 2007 (31.12.2007) pages 2670-2672	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2014/080289

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 103748216 A	23 April 2014	WO 2012163363 A1	06 December 2012
		US 2014087415 A1	27 March 2014
		EP 2714895 A1	09 April 2014
CN 101495619 A	29 July 2009	DK 2035548 T3	22 November 2010
		EP 2035548 B1	11 August 2010
		US 2012309043 A1	06 December 2012
		EP 2282210 A1	09 February 2011
		WO 2007144001 A2	21 December 2007
		WO 2007144001 A3	05 June 2008
		US 2013102837 A1	25 April 2013
		US 2013225917 A1	29 August 2013
		DE 602007008419 D1	23 September 2010
		EP 2035548 A2	18 March 2009
		JP 2009539387 A	19 November 2009
		JP 2013198503 A	03 October 2013
		CN 103074410 A	01 May 2013
		AT 477499 T	15 August 2010
		US 2010041090 A1	18 February 2010
		CN 101495619 B	08 January 2014
WO 2007042044 A1	19 April 2007	US 2008247628 A1	09 October 2008
		EP 1949297 A1	30 July 2008
		JP 2013084277 A	09 May 2013
		US 8265357 B2	11 September 2012
		CN 102254150 A	23 November 2011
		JP 2009512037 A	19 March 2009
		JP 5451073 B2	26 March 2014
WO 2013005012 A1	10 January 2013	CA 2838819 A1	10 January 2013
		EP 2726865 A1	07 May 2014

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2014/080289

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		JP 2014520522 A	05 August 2014
		AU 2012280031 A1	16 January 2014
		CN 103703368 A	02 April 2014
		US 2014206931 A1	24 July 2014

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2014/080289

A. 主题的分类

C12N 5/073(2010.01)i; G01N 33/68(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C12N; G01N

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNPAT,EPODOC,WPI,CNKI,PubMed:胚胎，质量，体外受精，分裂，卵裂球，embryo, quality, IVF, cleav+, blastomere

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	石江霞. ″“应用延时摄像技术筛选优质胚胎”″ 中国优秀硕士学位论文全文数据库 医药卫生科技辑, 第2014年 第06期期，2014年 6月 15日 (2014-06-15), E068-25	1
A	CN 101495619 A (尤尼森斯繁殖技术公司) 2009年 7月 29日 (2009-07-29)	1
A	CN 103748216 A (尤尼森斯繁殖技术公司) 2014年 4月 23日 (2014-04-23)	1
A	WO 2007042044 A1 (UNISCENSE FERTILITECH A/S) 2007年 4月 19日 (2007-04-19)	1
A	WO 2013005012 A1 (CAMBRIDGE ENTERPRISE LIMITED) 2013年 1月 10日 (2013-01-10)	1
A	PATERNOT, Geodele等. ″“Computer-assisted embryo selection: a benefit in the evaluation of embryo quality?”″ Reproductive BioMedicine Online, 第第23期卷，2011年 5月 20日 (2011-05-20), 第347-354页	1

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2014年 12月 16日	2015年 1月 05日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 中国 传真号 (86-10)62019451	受权官员 杨佳倩 电话号码 (86-10)82245626

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	VAN ROYEN, Eric等. ″“Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer”″ Human Reproduction, 第第14卷卷，第第9期期，1999年 12月 31日 (1999-12-31)， 第2345-2349页	1
A	谭兵兵 等. ″“早期卵裂与胚胎形态学和生长速率联合评分预测胚胎发育潜能 ”″ 中国妇幼保健, 第第22卷卷，第第19期期，2007年 12月 31日 (2007-12-31)， 第2670-2672页	1

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2014/080289

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	103748216	A	2014年 4月 23日	WO	2012163363	A1	2012年 12月 06日
				US	2014087415	A1	2014年 3月 27日
				EP	2714895	A1	2014年 4月 09日
CN	101495619	A	2009年 7月 29日	DK	2035548	T3	2010年 11月 22日
				EP	2035548	B1	2010年 8月 11日
				US	2012309043	A1	2012年 12月 06日
				EP	2282210	A1	2011年 2月 09日
				WO	2007144001	A2	2007年 12月 21日
				WO	2007144001	A3	2008年 6月 05日
				US	2013102837	A1	2013年 4月 25日
				US	2013225917	A1	2013年 8月 29日
				DE	602007008419	D1	2010年 9月 23日
				EP	2035548	A2	2009年 3月 18日
				JP	2009539387	A	2009年 11月 19日
				JP	2013198503	A	2013年 10月 03日
				CN	103074410	A	2013年 5月 01日
				AT	477499	T	2010年 8月 15日
				US	2010041090	A1	2010年 2月 18日
				CN	101495619	B	2014年 1月 08日
WO	2007042044	A1	2007年 4月 19日	US	2008247628	A1	2008年 10月 09日
				EP	1949297	A1	2008年 7月 30日
				JP	2013084277	A	2013年 5月 09日
				US	8265357	B2	2012年 9月 11日
				CN	102254150	A	2011年 11月 23日
				JP	2009512037	A	2009年 3月 19日
				JP	5451073	B2	2014年 3月 26日
WO	2013005012	A1	2013年 1月 10日	CA	2838819	A1	2013年 1月 10日
				EP	2726865	A1	2014年 5月 07日
				JP	2014520522	A	2014年 8月 25日
				AU	2012280031	A1	2014年 1月 16日
				CN	103703368	A	2014年 4月 02日
				US	2014206931	A1	2014年 7月 24日