

幹細胞用の完全自動化された
画像ベースのシングルセル
およびコロニーのピッキング

CellSelector Flex

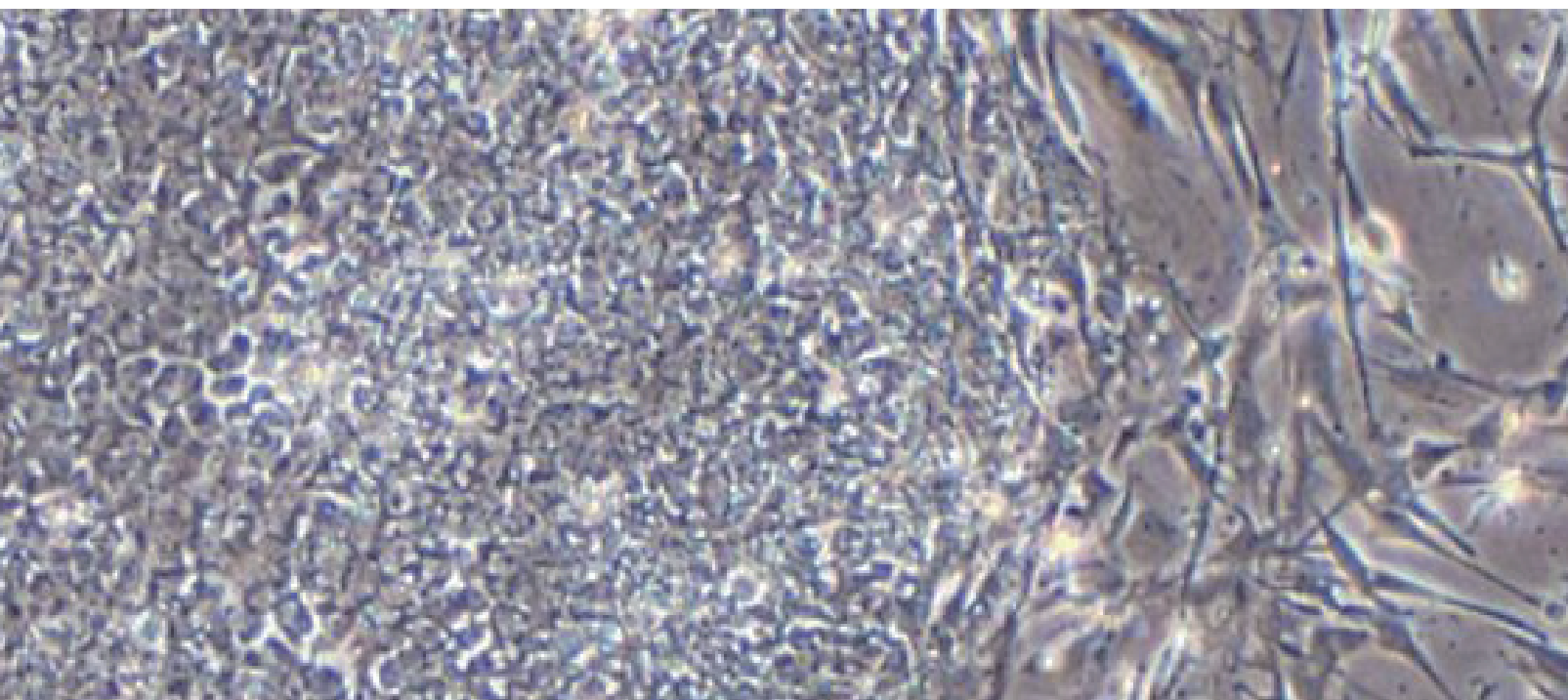
Simplifying Progress

SARTORIUS

幅広い幹細胞アプリケーション

幹細胞は、その高い自己再生能と分化能から、再生医療分野において重要な役割を担っており、特に幅広い生物医学および製薬研究への応用に適しています。CellCelector Flex は、接着細胞および細胞コロニー用に特別に設計されたピッキングモジュールを備えており、非常に穏やかで、高い特異性を有するため、幹細胞のクローン継代、幹細胞コロニー、および幹細胞コロニーの特定部分の単離に最適です。以下のような幹細胞研究をサポートします。

- シングルセルクローニングまたは不均一性研究のための幹細胞の単離
- 新たに得られたiPSコロニーのクローンピッキング
- CRISPR/Cas9を用いるゲノム編集用のコロニーピッキング
- 移動を伴うコロニー分割(レプリカプレートの作成)
- 分化した幹細胞コロニーの単離
- メチルセルロースからの造血幹細胞コロニーのスクリーンと単離
- HSC娘細胞の単離または“ダブルレット分割”
- 不要な細胞(幹細胞培養の分化した領域など)の除去



間葉系幹細胞、神経幹細胞などのシングルセルの単離

シングルセルおよびクラスター

接着コロニー

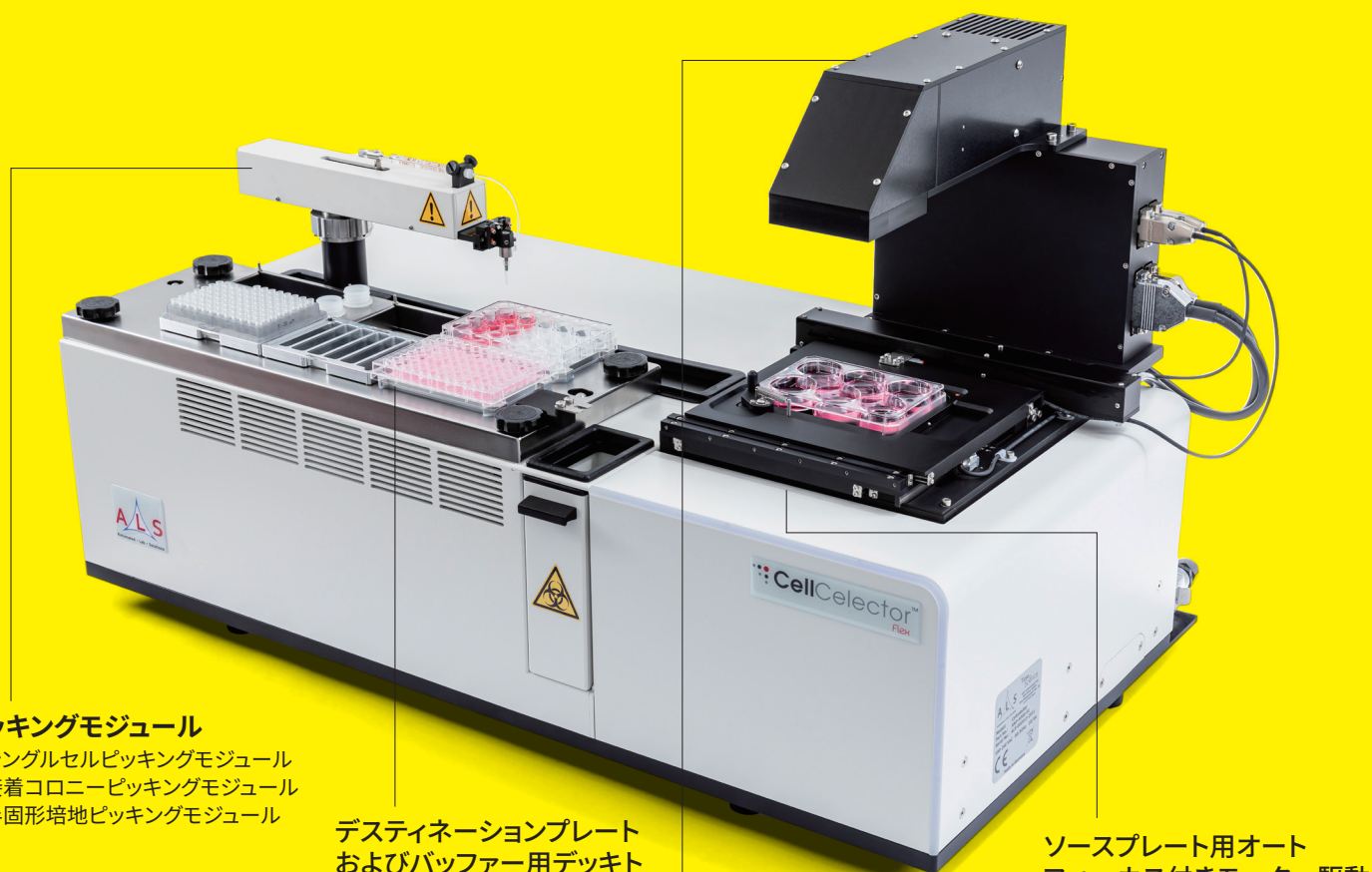
人工多能性幹細胞(iPS細胞)または胚性幹細胞(ES細胞)コロニーの完全または部分的な単離

3D造血幹細胞クラスター、ニューロスフェア、胚様体などの単離

3Dコロニー

CellCelector Flex: 幹細胞アプリケーションにおける有用なツール

幹細胞コロニーの移動は、多くの場合細胞にストレスのかかる手順であり、その結果多くの死細胞が生じ、隣接する生細胞に影響を与えることになります。コロニーの移動を助けるためにトリプシンや同様の酵素分解法を使用すると、細胞の表現型に明確な影響を及ぼし、特にリプログラム後間もない幹細胞では、意図しない分化を引き起こす可能性があります。さらに、異なるコロニーとのクロスコンタミネーションを引き起こし、クローン性が失われる可能性があります。手動による機械的な移動（ピペットチップやセルスクレーパーによる掻き取り）を取り入れることは、手間と時間のかかる作業です。そのため、多能性を維持したまま、ピッキングしたコロニーの生存率とクローン性を最大化する、特異性の高い穏やかな機械的移動法を実施することが重要です。



ピッキングモジュール

- シングルセルピッキングモジュール
- 接着コロニーピッキングモジュール
- 半固形培地ピッキングモジュール

デスティネーションプレート およびバッファー用デッキトレイ

デスティネーションプレートの温度調節 (4 °C ~ 40 °C)

CCDカメラ付き倒立顕微鏡

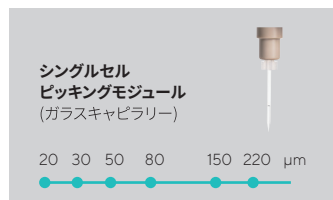
- 対物レンズ 2倍~40倍
- 明視野 (BF)
- 位相差 (PhC)
- 蛍光 (6励起チャンネル、蛍光色素を使用した最大14色)

ソースプレート用オートフォーカス付きモーター駆動式高精度XYステージ

シングルセル幹細胞、幹細胞コロニー、または部分コロニーをピックアップするためのモジュール



接着コロニーピックアップモジュールはコロニー全体またはその大部分をピックアップするのに適したツールです。オペレーターは各コロニーに合った最適な直径サイズのScrapeTipを選んで使用できます。

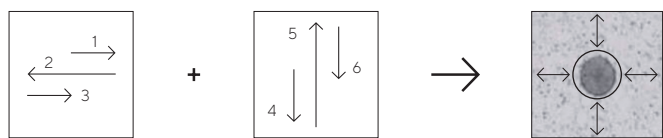


特定のコロニー部分、例えば幹細胞コロニー内の未分化領域の正確な単離、およびシングルセル幹細胞の単離には、シングルセルピックアップモジュールを使用できます。このモジュールは、20 μmから最大220 μmまでのさまざまな直径で利用可能なガラスキャピラリーを使用しています。



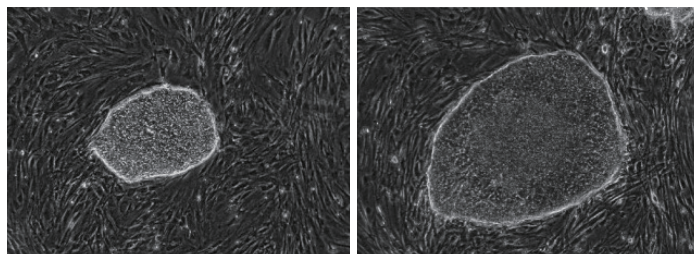
胚様体、スフェロイド、オルガノイド、造血幹細胞コロニーなどの3Dコロニーを単離するには、半固形培地ピックアップモジュールが最適なツールです。コロニーのサイズに応じて、2種類の異なる直径が利用可能です。

非常に穏やかなピックアップにより 細胞の生存と増殖を確実に...



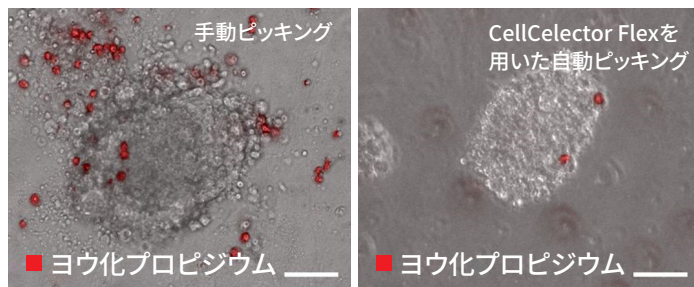
接着コロニーのピックアップには、CellSelector Flexの非常に穏やかな縦横方向のスクレイプの動きと、コロニーの同時吸引を組み合わせて使用します。これにより、培養プレートの底面やフィーダー細胞層からコロニーを優しくほぐします。

コロニーの形態は、その現在の状態に関する重要な情報を提供することができます。代表的なコロニーの位相差画像は、新しい培養ディッシュへの自動継代の3日後(左)と5日後(右)に撮影されました。コロニーは正常な成長を示しました。このことから、CellSelector Flexで自動継代した幹細胞コロニーは、同じ継代のコロニーを手動で継代した場合と大差がないことがわかります。



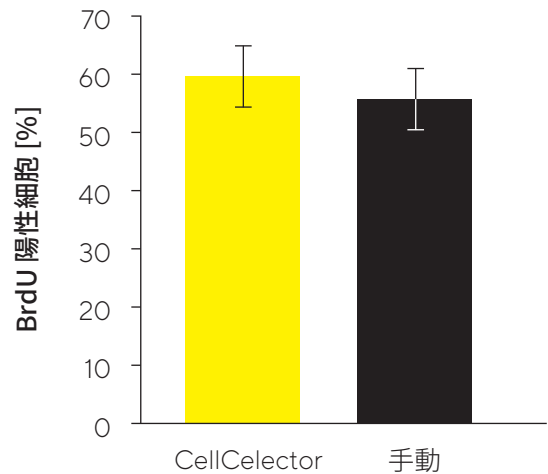
自動ピッキングは細胞に優しいため、手動ピッキングに比べ、死細胞の発生率が非常に低くなります。

細胞の活発な増殖は、CellCelector Flexの自動ピッキングにより影響を受けません。



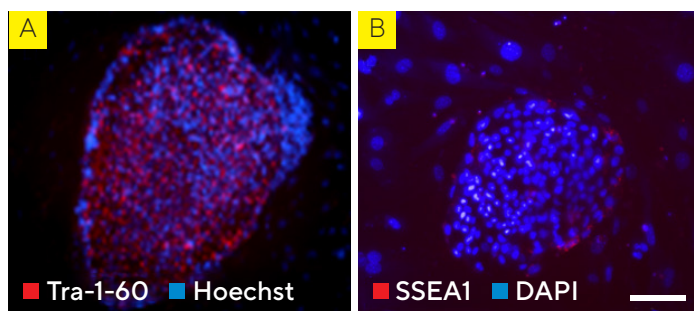
画像は、Oliver Brüstle & Simone Haupt, Life & Brain GmbH, Bonn, Germanyのご厚意によりご提供いただきました。

FACSで測定したBrdU (ブロモデオキシウリジン) 取り込みの平均値は、ヒト胚性幹細胞 (hESC) の活発な増殖を%で示し、エラーバーは標準偏差を表しています。



CellCelector Flexを用いた自動ピッキング後のhESCクラスター (右)、コントロールとしてピペットチップを用いた手動ピッキング後のhESCクラスター (左)。ヨウ化プロピジウム (PI) 染色により、死滅したヒト胚性幹細胞 (赤色) が示されています。

...そして、多能性と分化能が保持されます

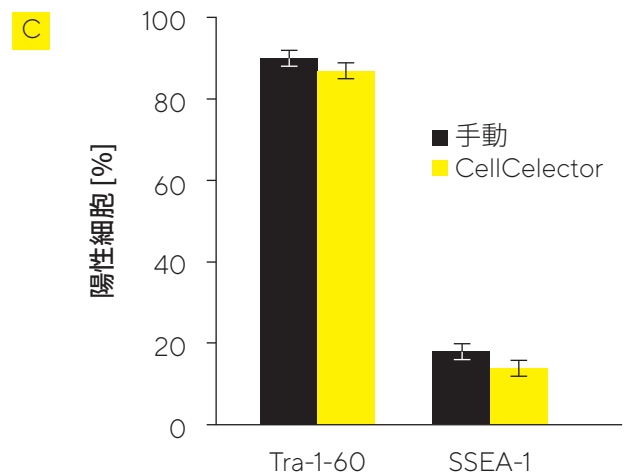


画像は、Oliver Brüstle & Simone Haupt, Life & Brain GmbH, Bonn, Germanyのご厚意によりご提供いただきました。

CellCelector Flexで継代したhESCの多能性関連マーカーを免疫化学的に発現解析したところ、従来の増殖hESCと同程度の発現量が確認されました。

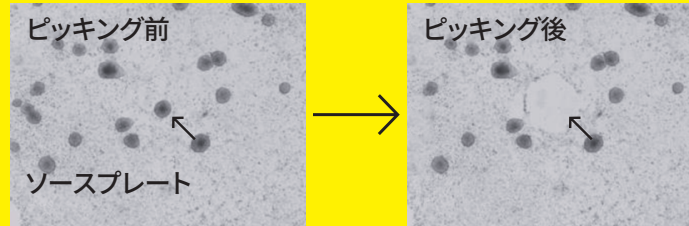
CellCelector Flexによる自動ピッキングは、hESCの多能性およびin-vitro分化能に影響を与えません。

自動ピッキング後のhESCの多能性関連表面マーカーTra-1-60 (A) および分化状態マーカーSSEA-1の評価 (B)。FACSで測定したTra-1-60とSSEA-1陽性細胞の平均値は、hESCの分化状態を%で示し、エラーバーは標準偏差を表しています (C)。



確実な移動と高い細胞増殖率

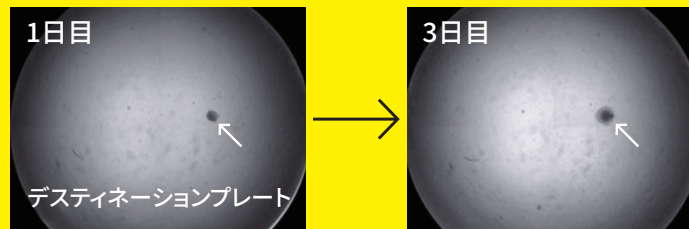
フィーダー細胞上で培養したマウス胚性幹細胞コロニーを単独で単離し、CellSelector Flexを用いて96ウェルのデスティネーションプレートに移しました。



CellSelector Flexは、選択された幹細胞を特異的に単離します。

CellSelector Flex による移動

単離したコロニーは、CellSelector Flexでデスティネーションウェルを再スキャンした後、再検出しました(1日目および3日目)。コロニーは3日間の時間経過で良好に成長しました。



CellSelector Flexは、幹細胞コロニーの成長に影響を与えません。

“画像は、Ute Schaefer & Annette Schneider, Institute for Research in Operative Medicine, Cologne, Germanyのご厚意によりご提供いただきました。”

明確なワークフローとユーザーフレンドリーなソフトウェア

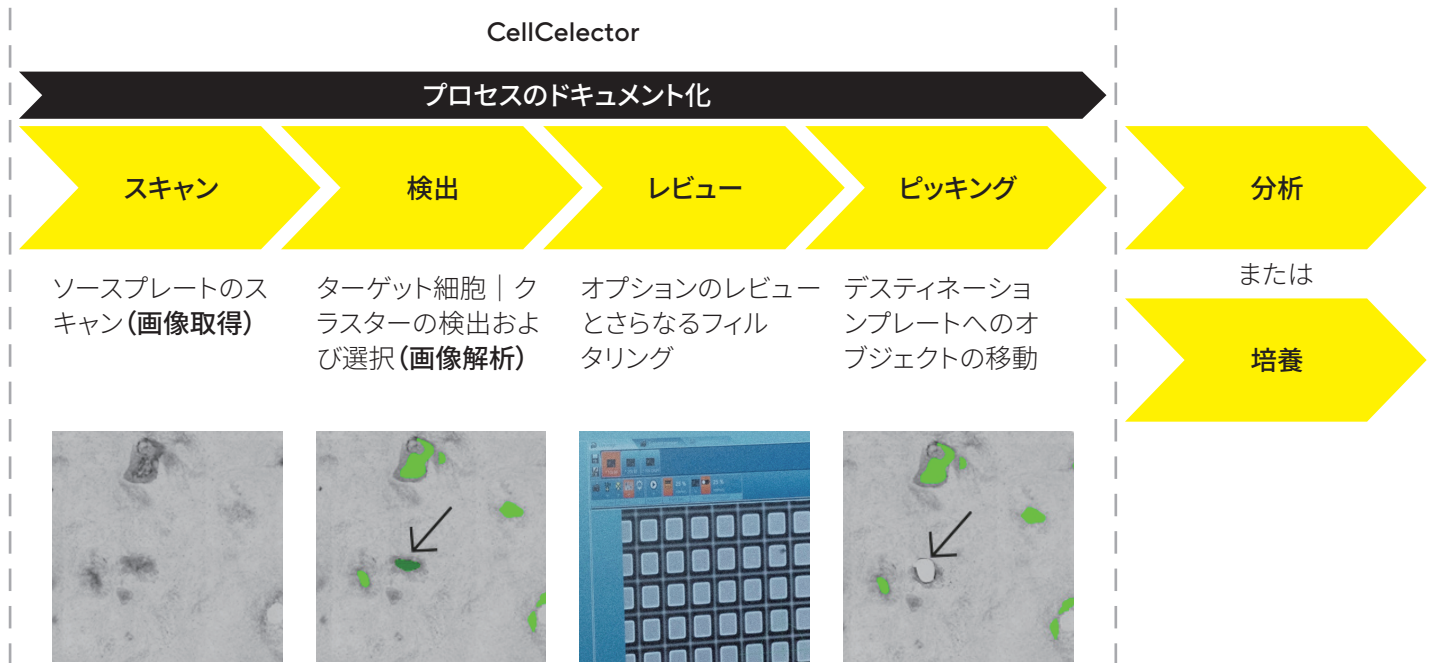
ワークフロー全体は完全に自動化されており、ピッキング中のライブ画像、ソース位置からデスティネーションプレートへの細胞追跡データ、およびピッキングの前後の高画質画像がドキュメント化されています。

アプリケーションとユーザーの要件に応じて、ピッキングする細胞を完全に自動的に検出、識別、選択できます。ターゲット細胞のサイズと形態に基づいてラベルを使用しないか、陽性/陰性の蛍光マーカーを使用します。他に、オペレーターによる半自動または手動の画面上での選択が可能です。

本システムの標準的な実験ワークフローは、最大5つのワークフローステップに分かれています。

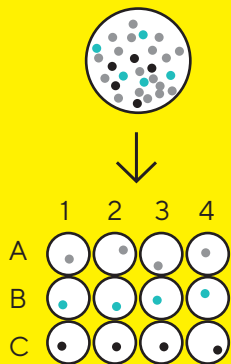
- **スキャン:** 必要なすべてのチャンネル (明視野、位相差、蛍光) と倍率で画像を取得・保存するためのソーススキャン
- **検出:** それらの画像の分析とユーザー定義の基準に基づいた目的の細胞またはコロニーの検出
- **レビュー:** オペレーターによる分析結果のレビュー (オプション)
- **ピッキング:** 検出されたシングルセルおよびコロニーのピッキング
- **ドキュメント化:** 実験結果のドキュメント化とエクスポート

さまざまなユーザーアクセスレベルにより、新しいオペレーターは多くのトレーニングなしでソフトウェアに簡単にアクセスできる一方で、高度な機能、すべてのパラメーターへのオープンアクセス、キャリブレーションおよびパワーユーザー向けのカスタマイズ機能を提供します。これにより、日常の簡単な使用だけでなく、高度で複雑な実験も可能になります。



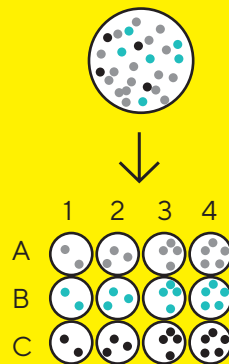
ダウンストリームの培養のための複数の沈着が可能

シングル沈着



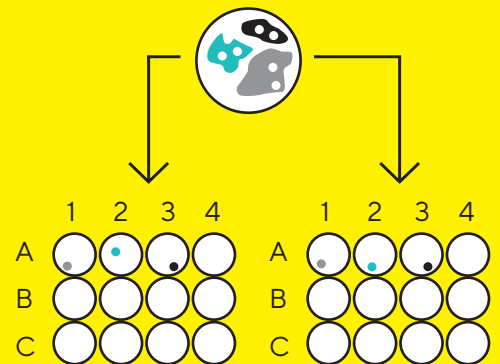
シングルセルの解析や培養を行うために、CellCelector Flexはピッキングした各オブジェクトをそれぞれ1つのウェルに沈着させます。

プーリング



複数のシングルセルや、1つのコロニーの一部を1つのウェルにプールすることができます。

レプリカの生成



1つのコロニーのレプリカウェルを作成することで、コロニー培養と解析の両立が可能です。

幹細胞アプリケーションでCellCelectorを使用するメリット

迅速で使いやすい

- 複雑なサンプル前処理を必要とせず、短時間での実験が可能
- ~30秒/1細胞
- 定期的なメンテナンスが不要で、消耗品コストが低い

高い汎用性と柔軟性

- 個々のシングルセル、クラスター、シングルセルクローン、スフェロイド、小さなオルガノイド、胚様体の正確な単離
- 初代細胞および細胞株、生細胞および固定細胞
- 明視野、位相差、蛍光イメージング
- 自動、半自動、手動によるピッキングのための細胞選択
- マイクロプレート、ディッシュ、PCRチューブなど、あらゆる標準またはカスタムのソースおよびデスティネーションフォーマット
- 少ない吸引量、分注量、およびバッファ量 (~1 nl)
- 免疫磁気濃縮、サイズベースの分離、シングルセルPCR、NGS、ゲノム編集、細胞クローニングなどのアップストリームおよびダウンストリームでのアプリケーションに対応

信頼性

- 選択された特定のサブ集団の95%を超えるピッキング精度
- 移動するオブジェクトの自動再位置決め機能
- ピッキング失敗時に再ピッキングが可能
- ピッキング成功の自動検出を行う統合品質管理ソフトウェア

穏和な手法

- 細胞の特徴的な性質に影響を与えない
- 分子特性解析や細胞培養に適した高純度でインтактな細胞の単離 (低せん断応力: キャピラリー内で10秒以下)
- 95%以上の生存率で、高い細胞の完全性と増殖率を実現

ドキュメント化

- GLPおよびGMP基準に準拠した完全なワークフローのドキュメント化
- ピッキング時のライブトラッキングと高画質リアルタイム画像による品質管理
- 検出 | ピッキングされた各オブジェクトに固有のIDが付与され、ソースからデスティネーションウェルまで追跡可能
- 全画像および数値データを簡単にエクスポート

ザルトリウス・ジャパン株式会社

東京本社

〒140-0001

東京都品川区北品川1-8-11

Daiwa 品川Northビル4階

Phone: 03 6478 5200 Fax: 03 6478 5494

Email: hp.info@sartorius.com

名古屋営業所

〒461-0002

名古屋市東区代官町35-16

Phone: 03 6478 5204

Fax: 03 6478 5497

大阪営業所

〒532-0003

大阪市淀川区宮原4-3-39

Phone: 03 6478 5203

Fax: 03 6478 5496

 For additional information,
visit www.sartorius.com/cellcelector