

抗体発見のための完全自動  
化された画像ベースのクロー  
ンおよびシングルセルのスク  
リーニングと単離

CellCelector Flex

Simplifying Progress

**SARTORIUS**

# CellCelector Flex: 抗体の発見と生産における有用なツール

目的の抗体を高レベルで分泌する最適なクローンの識別と選択は、抗体発見プロセスにおける重要なステップの一つです。完全自動化された画像ベースのスクリーニングと単離のプラットフォームであるCellCelector Flexを使用することで、従来の手法と比較してプロセスを大幅に短縮することができます。

## 自動化

- スクリーニング、ランキング、選択、分離のプロセスを自動化

## スピード

- B細胞スクリーニングの1日ワークフロー
- ハイスループット単一細胞クローニング(HT-NIC)

## 柔軟性

- B細胞、ハイブリドーマ、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)単細胞、クローン細胞
- 液体培地・半固体培地からの単離

## 特性評価

- モノクローナリティ
- 生存率
- 機能性
- 生産性



## ピッキングモジュール

- ③ シングルセルピッキングモジュール
- ③ 接着コロニーピッキングモジュール
- ③ 半圆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クトレイ

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

- ③ 対物レンズ 2倍~40倍
- ③ 明視野 (BF)
- ③ 位相差 (PhC)
- ③ 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

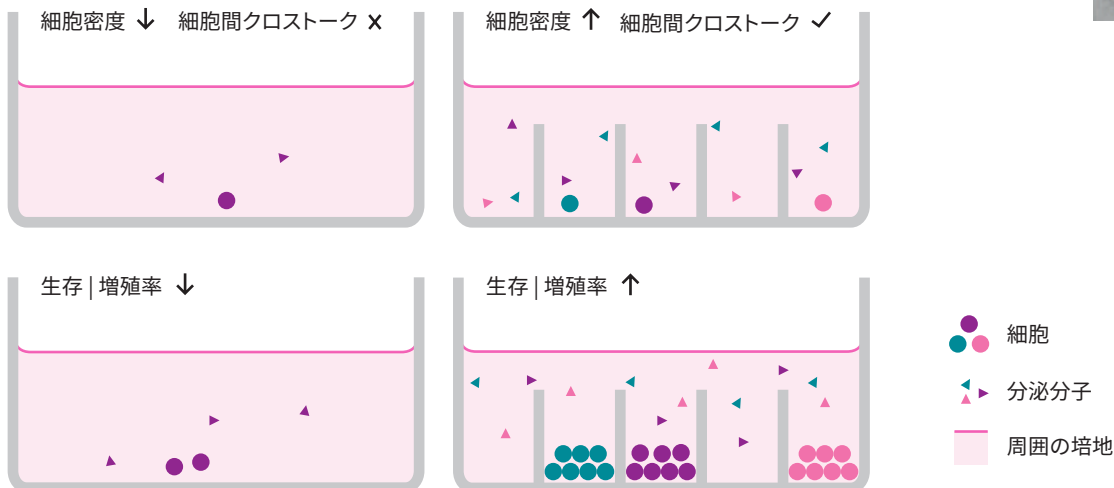
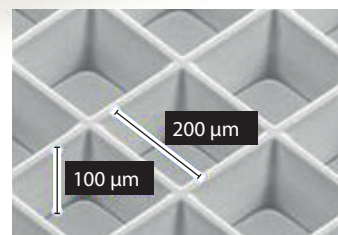
# モノクローナルな高生産クローンの ハイスループット識別法

ハイスループットなナノウェルベースの画像検証クローニング技術（HT-NIC: High-Throughput Nanowell-based Image-verified Single Cell Cloning）は、CellCelector Flexと当社のナノウェルプレートを組み合わせたモノクローナルな高生産クローンを識別するために開発した新しい技術です。この新しい技術を使用すれば、クローンを選択する前に効果的に評価・検証することができるようになります。1週間以内で、シングルセルプールからモノクローナルで生存力のある、生産性の高いコロニーが得られます。大量のプレートに頼って勝敗を決めるのではなく、実際のデータを使ってクローンの将来を確実に予測することができます。これにより、消耗品や培地のコスト、インキュベーターのスペース、そして何よりも貴重な時間を節約することができます、失敗や2周目のクローニンググラウンド、および不必要な手順を避けることができます。

従来のメチルセルロースを用いた方法とは異なり、CellCelectorナノウェルを用いた方法では、液体培地でのコロニー増殖が可能です。クローンは同じ培地を共有していますが、ナノウェルの壁によって互いに効果的に分離されています。

## CellCelectorナノウェル細胞培養プレート

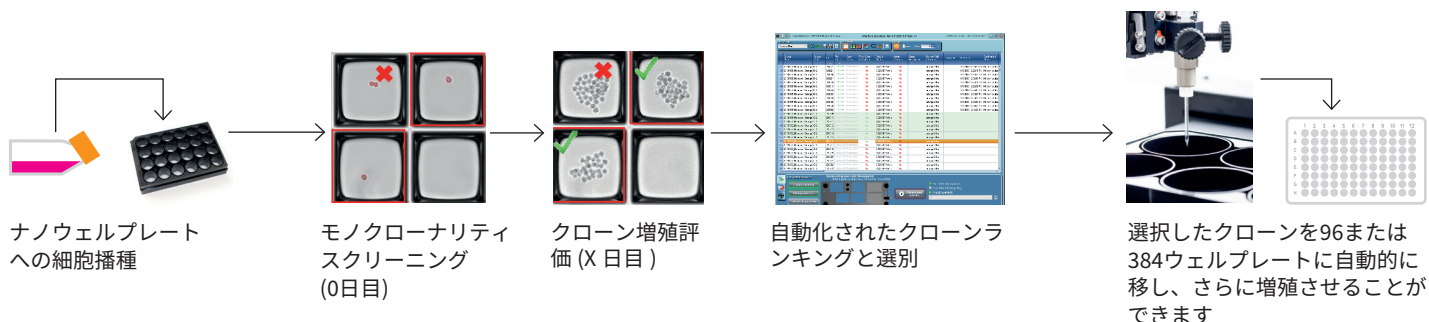
HT-NIC法は、CellCelectorナノウェルプレートをベースにしています。これらのプレートは、各ウェルの底に数千個のナノウェルを備えた、さまざまなフォーマットで提供されています。24ウェルプレートの場合、ウェルあたり4,300ナノウェル、すなわちプレートあたり100,000ナノウェルという数になります。局所的な分離にもかかわらず、ナノウェル内の細胞は同じ培地で覆われているため、そこには効果的な細胞クロストークが生じ得ます。プール内のすべての細胞は、それらのモノクローナリティを維持しながら、細胞株の増殖に貢献することになります。これにより、培養が非常に困難な細胞株においても、業界をリードするシングルセルからの増殖率を実現しています。



## ワークフロー

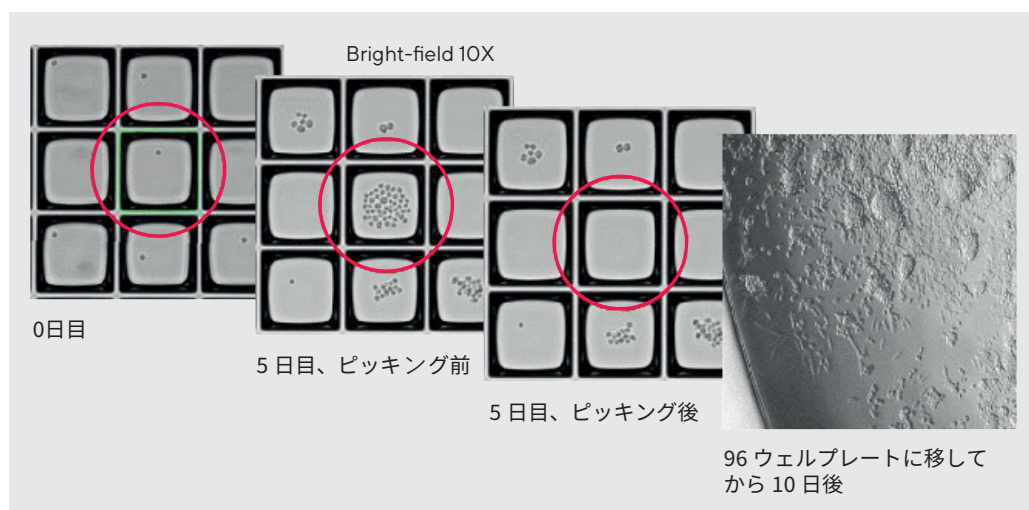
細胞播種は、従来の細胞培養プレートと同様に行われます。播種後、細胞は古典的なポアソン分布に従って、ナノウェル内にランダムに捕捉されます。ウェルの自動スキャンと、それに続くシングルセルを含むすべてのナノウェルの自動識別により、堅牢でドキュメント化され

た画像ベースのモノクローナリティの証明が提供されます。複数のウェルに播種することで、それぞれのナノウェルプレートに含まれている最大14,000個のシングルセルからスタートすることができます。



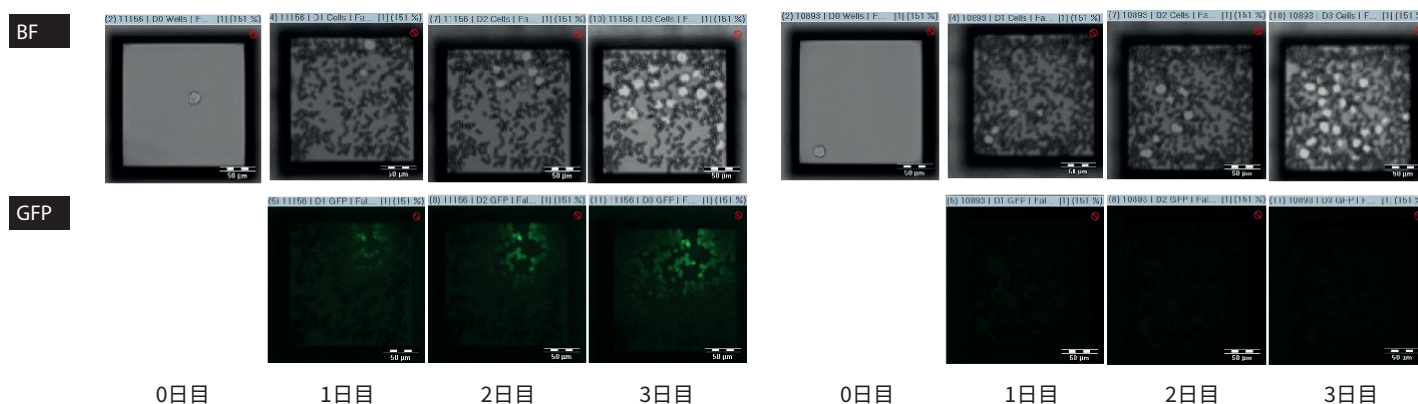
モノクローナリティが記録された後、細胞をインキュベーター内で3~6日培養すると、クローンあたり最大75個の細胞が得られます。

細胞がシングルセルからクローンに成長した後、ナノウェルプレートが再度スキャンされ、モノクローナルな生存クローンが自動的に選択され、さらなる分析とアップスケーリングのために96または384ウェルプレートに移されます。



## クローン分泌アッセイ

ナノウェルでは、目的の抗体を高レベルで産生するクローンのみを確実に選択するために適切な分泌アッセイを実施することも可能です。



高分泌シングルセルクローン。明視野と蛍光で撮影した培養1、2および3日目の画像。0日目の明視野画像はシングルセルを示しています。

目的の抗体を分泌していないシングルセルクローン。明視野と蛍光で撮影した培養1、2および3日目の画像。0日目の明視野画像はシングルセルを示しています。

# 自動化された単一血漿B細胞分泌スクリーニングおよび回収

CellCelector Flexは、独自のナノウェル技術により、選択的な細胞スクリーニング、イメージング、高感度シングルセルアッセイ、および細胞単離を組み合わせ、1日以内に数千の単一血漿B細胞を並行して処理することができます。

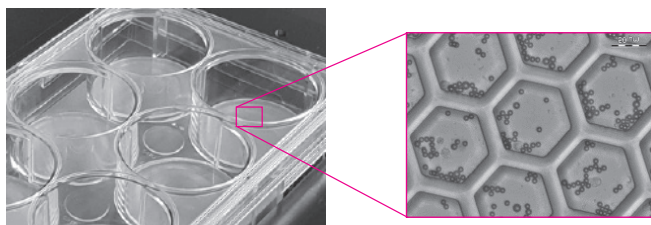
また、シングルセル解析は、従来のスクリーニング法では見つけることが困難な、固有の特性を持つ希少な抗体の検出を可能にします。個々の細胞は、アッセイに必要な最小限の細胞数に達するまで数週間培養することなく、すぐにいくつかのアッセイでテストされます。

## CellCelectorによるOne-Day B細胞スクリーニングおよび単離ワークフロー



### ステップ1. 簡単な細胞播種

シングルセル懸濁液をナノウェルアレイのウェルに手動で分注します。ナノウェルアレイの各ウェルは、底面にある追加のウェルパターンを特徴とします。プレートの種類やナノウェルのサイズにもよりますが、1ウェルあたり60,000~200,000個のナノウェルが存在することになります。シングルセル溶液の添加後、個々の細胞はポアソン分布に従ってナノウェル内にランダムに分散されます。



H 100 アレイ：B 細胞と抗原特異的コーティングビーズを播種した六角形の 100 μm ナノウェル

### ステップ2. シングルセルのスクリーニング

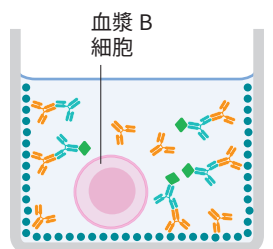
播種されたウェルは、CellCelector Flexにより明視野でスキャンされます。ソフトウェアがシングルセルのナノウェルを自動識別します。



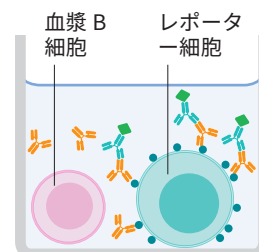
### ステップ3. シングルセル分泌アッセイの実行

特異的分泌アッセイは、ナノウェルにおいて個々の細胞に対して行われ、目的の分泌細胞を迅速に識別できます。CellCelector B-cell ワークフローは、以下のような数種類の細胞アッセイに対応しています。

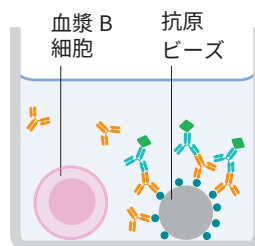
#### アッセイ例



プレートキャプチャーコーティングによるアッセイ



抗原発現レポーター細胞アッセイ

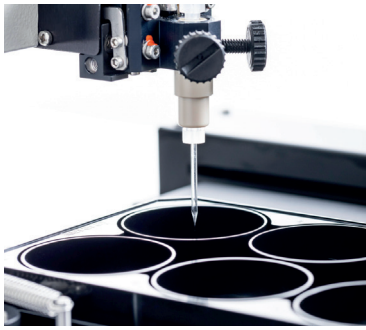


ビーズベースのアッセイ

#### ステップ4. 細胞の移動

目的の細胞（ヒット）が識別された後、CellCelectorによってそれらの細胞はその後の分析およびプロセスに適したターゲット容器に移されます。

CellCelectorは、機械的吸引による非常に穏やかなピッキングプロセスを促進し、ピッキングされたB細胞の高い生存率での回収を可能にします。



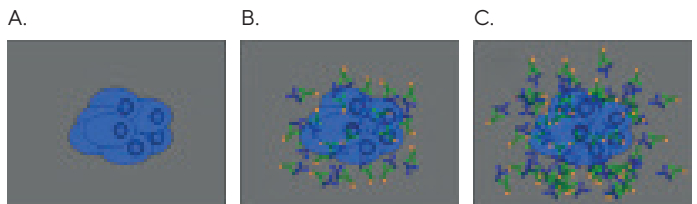
#### ステップ5. レポートの生成

シングルセルスクリーニングからヒットの移動までの全プロセスは完全にドキュメント化されており、GLPおよびGMP基準に準拠しています。各ピッキングプロセスの高画質な顕微鏡画像を後で確認することができます。全画像および数値データ（例：モルフォロジーおよびスペクトル値）、ならびに各細胞の分取元と分配先の位置はデータベースに保存され、お客様のLIMシステムに素早く簡単にエクスポートすることが可能です。

## 半固形培地からの高生産ハイブリドーマ細胞およびチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞の選択

ハイブリドーマクローンからの抗体産生は、クローン間で劇的に異なる可能性があります。クローンによって産生され、培地に分泌されるタンパク質は、蛍光標識された二次抗体によって可視化することができます。半固形培地の粘性により、抗体が培地にさらに拡散することが防がれるため、蛍光シグナルは抗体を産生した細胞コロニーの周りに蛍光ハローとして現れます。高生産クローンを選別するために、CellCelectorソフトウェアは、明視野で見える細胞コロニーのサイズを細胞コロニーを取り巻く蛍光ハローのサイズと比較し、各コロニーの抗体産生率を算出します。これにより、複数のソースプレート間で最も抗体産生率の高い細胞コロニーをランク付けすることができます。

抗体産生の強さは、コロニー周囲の蛍光ハローの直径と相関します：抗体を産生しないコロニー（AおよびD）、中程度の量の抗体を産生するコロニー（BおよびE）、大量の抗体を産生するコロニー＝高生産（CおよびF）。コロニーのサイズは類似しています（明視野観察D-Fの拡大領域を参照）。



A-C：ハイブリドーマクローン（水色）と、蛍光色素標識二次抗体（緑に黄色の丸）による分泌抗体（濃い青色）の検出の概略図。



D-F: 蛍光色素標識二次抗体とのインキュベーション後のハイブリドーマクローンの顕微鏡写真（明視野および蛍光照明のオーバーレイ）

抗体産生CHO細胞コロニー。  
CellCelector or Flexの半固形培地モジュールによるピッキング前後の画像。



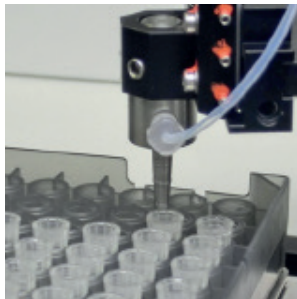
# メチルセルロース含有培地からのハイブリドーマおよびCHOコロニーの正確な単離

メチルセルロース、寒天、Matrigel®などの半固形培地からコロニーを穏やかに、かつ標的を絞って単離するために、CellSelector Flex では、特定の使い捨てプラスチック

チップを使用した専用ツールを提供しています。ピッキングするコロニーの大きさに応じて、500 μmと1200 μmの2種類の直径がご利用いただけます。

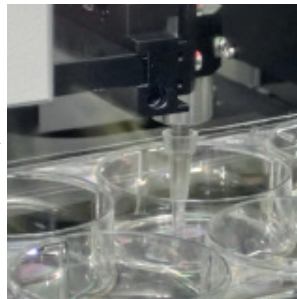
ワークフロー (20~30秒)

チップの取り出し



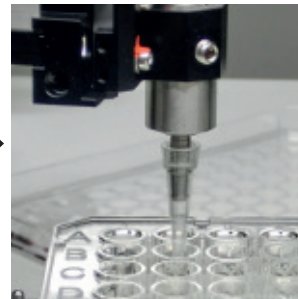
ラックから新しいプラスチックチップを取り出します

コロニーの吸引



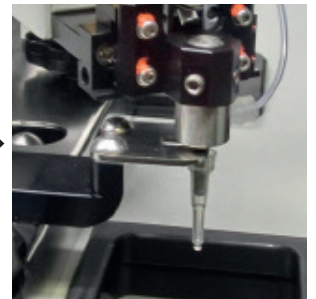
制御された吸引により目的のコロニーをピッキングします

沈着



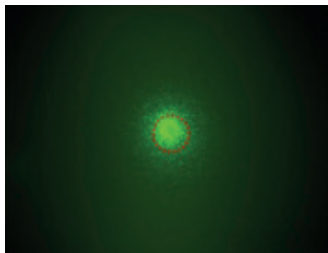
ピッキングしたコロニーをデスティネーションウェルへ移動します

チップの廃棄

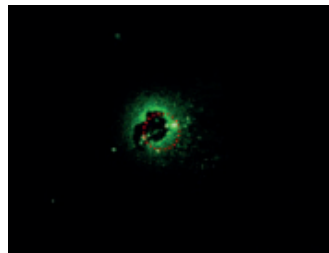


使用済みチップを廃棄物容器へ廃棄します

A.



B.

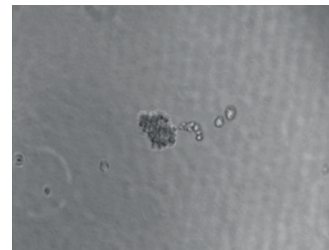


ピッキング前 (A) とピッキング後 (B) のメチルセルロース中のCHO細胞コロニーの蛍光画像

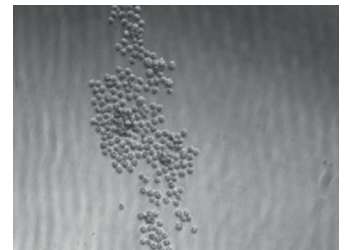
## 移動後の高い細胞生存率

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。そのため、死細胞の発生を最小限に抑えることのできる穏やかな機械的移動法を実施することが重要です。CellSelectorは、メチルセルロース含有培地からハイブリドーマコロニーを単離し、移動するための穏やかで信頼性の高い方法を提供します。細胞は新しい環境下で急速に増殖し続けます。

A. 1日目



B. 5日目




半固形培地モジュールで採取したCHO細胞コロニーを96ウェルデスティネーションプレートで培養した

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](mailto: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](http://www.sartorius.com)