

セルソーターSH800Sによる細胞ソーティング後のシングルセル培養生存率を高めるための最適化

背景

近年セルソーターでシングルセルを回収後、培養することはクローン選択、スクリーニングなど、広く利用されている。

セルソーターで回収したシングルセルを培養する大きな課題の一つは、セルソーター個々の特性や設定内容に依存して、生存率に大きな差が出てしまうことである。

本テクニカルノートでは、シングルセル培養の生存率について、生存率に大きく差が出る一つであるオリフィスサイズの違いに着目し、他社従来機の同等オリフィスサイズの製品と比較した結果を紹介する。

サンプル、装置

- ・ Chinese Hamster Ovary(CHO)3系統(A, B, C)
- ・ セルソーターSH800S(オリフィスサイズ：100 μ m/130 μ mソーティングチップ)
- ・ 他社従来機セルソーター(オリフィスサイズ：100 μ mノズル)

方法

それぞれの装置において、96ウェルプレートにシングルセルソーティング後、培養約3週間後に、High Contents Screening(HCS)システムにて細胞増殖結果を比較した。

結果

図1は、96ウェルにソーティングしたシングルセルについて、経過約3週間後に増殖が認められたコロニーをHCSシステムにて撮像したのになり、図2のように、細胞3種類においての回収率を表とグラフにまとめた。いずれの細胞種においても、130 μ mソーティングチップを使用した条件が最も生存率が高く、同じ100 μ mソーティングチップにおいても他社機と比較して良好な生存率(最大1.6倍)となった。

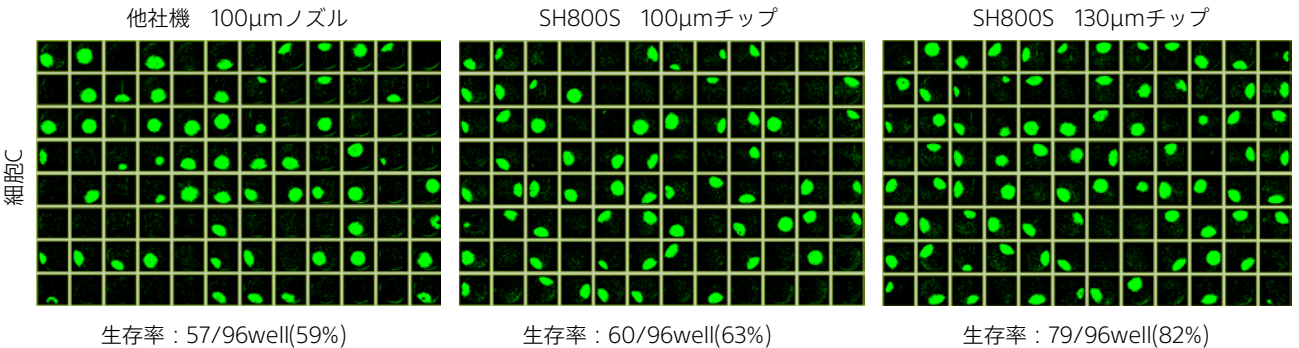


図1. HCSシステムにて撮像した細胞増殖結果例(細胞C)

機種	生存率(%)		
	他社機	SH800S	
オリフィスサイズ	100 μ m	100 μ m*	130 μ m
細胞A	66	68	81
細胞B	39	63	63
細胞C	59	63	82

*SH800Sの100 μ mはLE-C3210のTargeted modeを選択

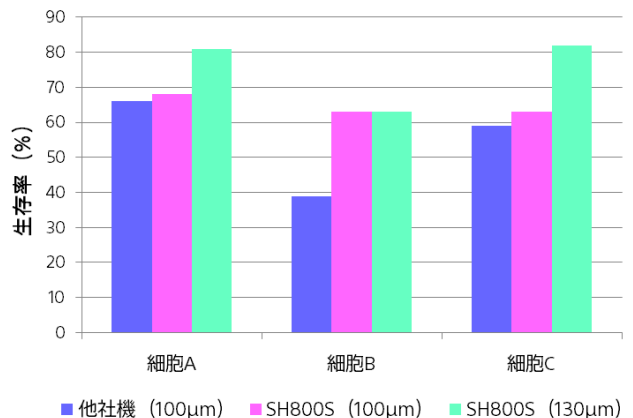


図2. 他社機と比較したシングルセル培養結果

考察

図3Aに示すように、SH800Sは3種類のオリフィスサイズが存在しており、そのサイズの違いにより、細胞の落下衝撃が異なる。さらに、同じ100 μ mのオリフィスサイズであっても、他社装置と比較すると、落下速度がゆっくりであることも分かる。図3Bは落下衝撃について可視化したものになるが、130 μ mソーティングチップの方が100 μ mソーティングチップよりも細胞がゆっくりと落下しており、結果として、細胞に与えるダメージはより小さいことが推察される。シングルセル培養についてはこうした落下衝撃の違いが一つの原因となり、培養結果に大きな差がでるのではないかと考えられる。

A

オリフィスサイズ	他社従来機			SH800S	
	70 μ m ノズル	100 μ m ノズル	70 μ m チップ	100 μ m チップ	130 μ m チップ
1. チューブへの細胞の命中精度	低	低	高	高	高
2. 細胞が受ける落下衝撃	大 約24m/秒	大 約14m/秒 ~20m/秒	小 約18m/秒	小 約12m/秒	非常に小 約6m/秒
3. 細胞が受ける乱流衝撃	大	大	小	小	小

B

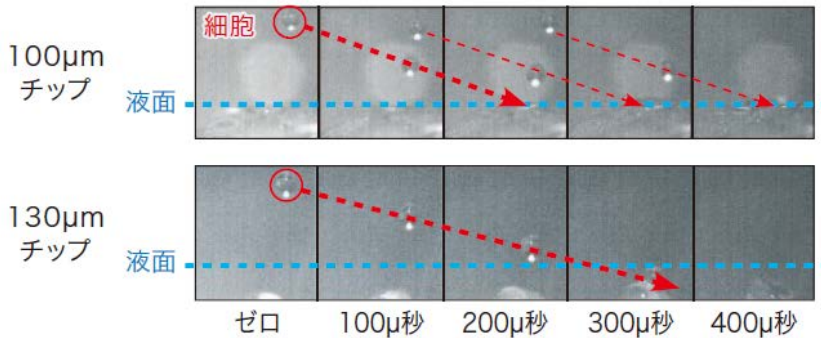


図3. セルソーターSH800Sによるセルソーティングの特徴

A. 生存率の高い3つの理由(他社従来機と比較)

B. 細胞落下の様子

セルソーターSH800S

全自動セットアップ・小型化を実現した“日本発”セルソーター

・ Compact Size -小型 & 4レーザー

小型ながら最大4レーザー搭載可能で、前方散乱光、後方散乱光と合計6種類の蛍光を検出可能

・ Automatic Setup -オペレーター不要の全自動設定

光軸調整、液滴形成、サイドストリーム調整、ディレイタイム決定を自動化し、手間のかかる設定作業が不要

・ Sorting Chip -コンタミフリー&メンテナンスフリー

細胞の種類やアプリケーション(生存率、速度)に合わせて最適なチップを3種類のオリフィスサイズ(70/100/130 μ m)から選択可能



このようにシングルセルソーティングの場合、細胞の種類にも依存するが、可能な限り細胞のソーティングダメージが少なくなるように、130 μ mソーティングチップを選択したり、ダメージが少ない装置を選択するなど、適切な環境の整備が極めて重要であることが示唆された。

発行元

ソニーイメージングプロダクツ&ソリューションズ(株)
ライフサイエンス営業部

〒243-0014 神奈川県厚木市旭町 4-14-1

Tel: 0120-667-010

Fax: 0120-388-060

E-mail: cytometry@sony.com

URL: <http://www.sony.co.jp/LS>

