

基本仕様

マイクロチャンバー	ウェル種類	φ10μm(338,560Well)、φ20μm(196,000Well)、φ30μm(84,640Well)
計測機能	蛍光フィルタ	蛍光フィルタ搭載枚数 3枚(自動切り替え) 固定:FITC/GFP(Ex:465~495nm、Em:516~556nm) 任意:PE/PI・Cy3・Cy5など
	多色同時計測	同時計測色数 1~3色から選択(※2色解析モデルは、1~2色)
	光源	超高圧型Hgランプ(光源寿命 約2,000時間)
	検出器	CCDカメラ
	撮影画像	透過光・蛍光
	感度(蛍光撮影時)	MESF1800相当以下(溶液にPBS使用時)
	解像度	1um/pixel 以下(10倍対物レンズ)
	計測時間	約4秒(単色)、約6秒(2色)、約7秒(3色)/ □1.5mm(1視野)
タイムラプス解析 ※タイムラプスモデル	温調ユニット	4℃~37℃マイクロチャンバー温調機能(オプション)
	タイムラプス測定	4視野を7秒間隔で撮影(10倍対物レンズ時)
	対物レンズ	10倍、4倍レンズ(オプション)、自動切り替え可能
自動回収機能	自動還流システム	ポンプユニット(ソフトウェアにて制御)
	キャピラリー-種類	Rank0 先端φ 8~14μm(酵母、ビーズ等) Rank1 先端φ15~19μm(酵母、リンパ球等) Rank2 先端φ20~24μm(CTCなど各種細胞) Rank3 先端φ25~29μm(ハイブリドーマなど各種細胞) Rank4 先端φ30~34μm(CHO細胞など、各種細胞) Rank5 先端φ35~38μm(細胞塊) Rank6 先端φ39~45μm(細胞塊)
その他	回収プレート	8連、12連、96ウェルPCRチューブ、6~384マルチウェルマイクロプレート
	温調ユニット	4℃~37℃回収プレートの温調機能(オプション)
	所要時間	30秒/ウェル(標準設定時)
	本体サイズ/重量	約700(W)×700(D)×800(H) mm/約60kg
	電源	AC100V 50/60Hz(15A以下)
	使用環境	屋内使用、温度 10℃~30℃、湿度 30~70%(結露なきこと)
	動作環境	Windows 7
	保存データ形式	画像:tiff、png 解析データ:csv、fcs、png 回収結果データ:csv、png
	構成	本体、制御PC、液晶モニター、光源、本体設置用除振台、還流ユニット(オプション) ソフトウェア(制御用ソフトウェア、データ解析用ソフトウェア)
	付属品	マイクロチャンバー用標準ホルダ×1 マイクロチャンバー用還流式ホルダ×1 (※タイムラプス解析モデル) 遠心用カウンターウェイト×1

ラインナップ

モデル	型式	透過光	蛍光	還流ユニット	温調機能	対物レンズ
2色標準 モデル	AS-PS-2C	有	2色	後付可能	後付可能	10倍
3色標準 モデル	AS-PS-3C	有	3色	後付可能	後付可能	10倍
2色タイムラプス モデル	AS-PS-2C-TL	有	2色	付属	後付可能	10倍、4倍(オプション)
3色タイムラプス モデル	AS-PS-3C-TL	有	3色	付属	後付可能	10倍、4倍(オプション)

※特注モデルの製作も承ります。

※仕様は予告なく変更される事がありますので、ご了承ください。

 **アズワン株式会社**

バイオサイエンスグループ

✉ bio@so.as-1.co.jp http://www.bio-lab.jp

大阪 〒550-8527 大阪市西区江戸堀 2-1-27
TEL.06-6447-8633 FAX.06-6447-8683

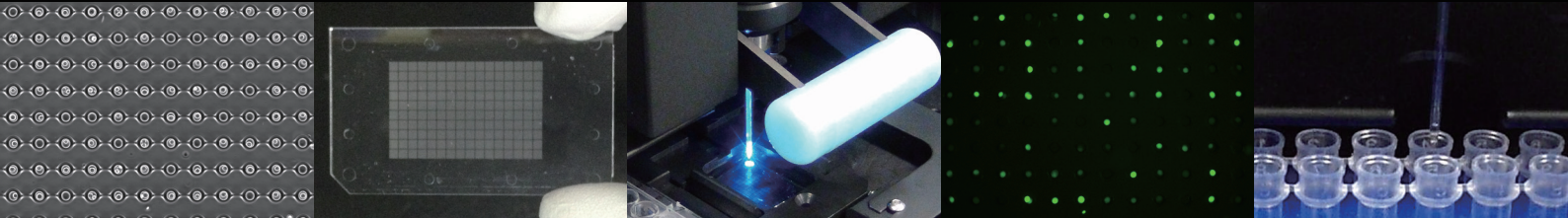
東京 〒103-0007 東京都中央区日本橋浜町 2-12-4 エスエス製薬本社ビル5階
TEL.03-3249-2072 FAX.03-3249-2100

■ご用命は信用のある代理店へ

ASONE Cell Picking System

シングルセルアッセイシステム

数万~数十万個の細胞集団から
1個の細胞を生きたまま回収



アズワン株式会社

ASONE Cell Picking System原理

ASONE Cell Picking Systemは、数万～数十万の微細ウェルを施したマイクロチャンバー上で細胞を単離し、蛍光強度、画像情報によって細胞を区分し、マイクロキャピラリーによって、Viabilityをキープしたまま、目的細胞をSingle-Cellベースで回収します。従来のフロサイトメトリー技術では成し得なかったアプリケーションが可能となります。

解析実績細胞

- B細胞、CHO
- 各種癌細胞
- ハイブリドーマ
- iPS細胞、ES細胞
- CTC、細胞塊
- 嗅覚細胞、味覚細胞

基本仕様

【チャンバー】
φ10μm (338,560Well)
φ20μm (196,000Well)
φ30μm (84,640Well)

【撮影項目】
蛍光&透過光
最大3色(FITC、PE、Cy3)

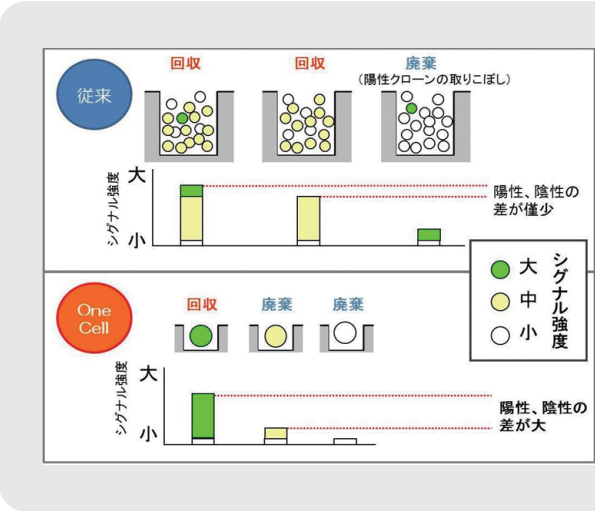
【回収時間】
1ウェルあたり約30秒

【回収】
8、12連、96ウェルPCRチューブ
6～384ウェルプレート

アプリケーション

- 抗体スクリーニング
- シングルセル遺伝子解析
- 安定発現株の取得
- 良質クローンのモノクローナル化
- 希少細胞の取得
- Ca²⁺応答反応 (タイムラプス解析)

ASONE Cell Picking System特徴



従来法

マイクロプレートに細胞を撒き、化合物などを加えてアッセイする方法があります。この場合、陽性/陰性の判定は、基本的にウェルベースで行われます。つまり、1細胞単位ではなく、集団で評価することになります。その場合、陽性シグナルの細胞集団を回収しても、偽陽性の細胞の集まりである可能性や、良質な1細胞が、陰性細胞集団に存在する場合、集団として陰性と判定され、廃棄されてしまいます。また、限界希釈法、濃縮ソーティング法でも、1細胞単位で採取することは極めて困難で、多大な手間と時間を要します。

ASONE Cell Picking System

革新技术をマイクロチャンバーに応用し、数万～数十万規模の集団の中で、1細胞毎に解析し1細胞ずつ、回収することができるため、大幅にスクリーニング効率を向上させることができます。

ASONE Cell Picking System文献

An automated system for high-throughput single cell-based breeding

Nobuo Yoshimoto^{1,2}, Akiko Kida¹, Xu Jie³, Masaya Kurokawa⁴, Masumi Iijima¹, Tomoaki Niimi¹, Andres D. Maturana¹, Itoshi Nikaido⁵, Hiroki R. Ueda⁵, Kenji Tatematsu², Katsuyuki Tanizawa², Akihiko Kondo⁶, Ikuo Fujii⁷ & Shunichi Kuroda^{1,2}

¹Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University; ²The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University
³The Furukawa Electric Co., Ltd. ⁴STARLITE Co., Ltd. ⁵RIKEN Center for Developmental Biology
⁶Graduate School of Science and Technology, Kobe University, ⁷Graduate School of Science, Osaka Prefecture University



詳細は下記にアクセスして下さい！
<http://www.nature.com/srep/2013/130201/srep01191/full/srep01191.html>



簡単な4ステップ操作

①サンプルセット

●マイクロチャンバーを専用ホルダーにセット

●細胞懸濁液をアプライ

●遠心用アダプター&バランス
●遠心(100rpm・1分)または、静置してウェルへ落とし込む
●必要に応じてウォッシュ

②スキャンニング

●スキャンエリアの指定
●対物レンズの選択(標準:10倍)
●蛍光フィルターの選択(最大3色)
●露光時間の設定

透過光画像

蛍光画像

③解析

●画像取得と同時に自動で蛍光値を計算
●ヒストグラム・ドットプロットを用いて目的細胞をゲーティング
●複数細胞/ウェルの自動検出排除
●画像を見ながらマニュアルで回収追加・削除指定可能

測定1: FITC

④回収

●回収モードの選択
- 1細胞1ウェルへ
- 指定した細胞数を1ウェルへ
- 回収失敗時の自動リトライ設定
●専用ガラスキャピラリーを用いて
96/384マイクロプレートへ自動回収
(PCRチューブへの回収も可能)
●回収前後の画像保存(透過光・蛍光)
●CSVデータの保存(細胞毎の蛍光輝度、回収ウェル番地)

【シングルセル遺伝子解析】
例) 米国NanoString社製nCounter Analysis System

【培養&産生】

①抗体分泌細胞のスクリーニング（イムノチャンバー法）

マイクロチャンバーに、抗原または抗体を結合。細胞から分泌される抗体がウェル内でトラップされ、光ったウェルの細胞を回収。（非侵襲）

抗体-抗体サンドイッチ
(抗体コーティングウェル型)

抗原-抗体サンドイッチ
(抗原コーティングウェル型)

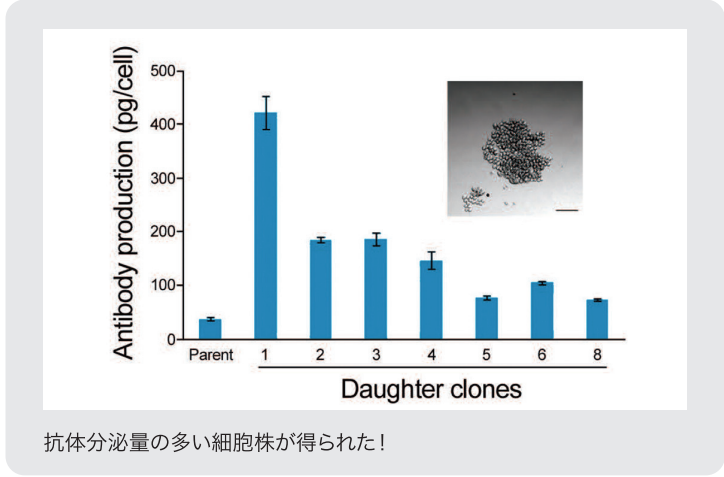
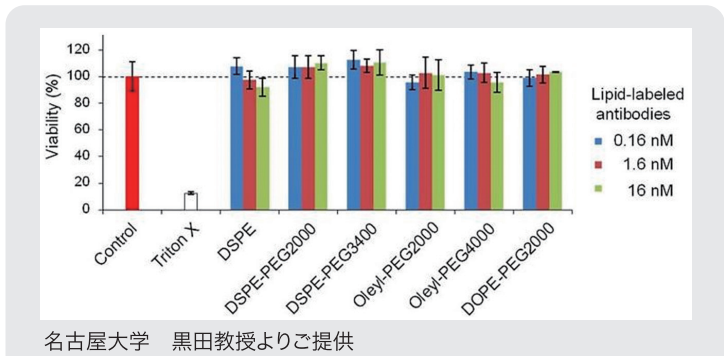
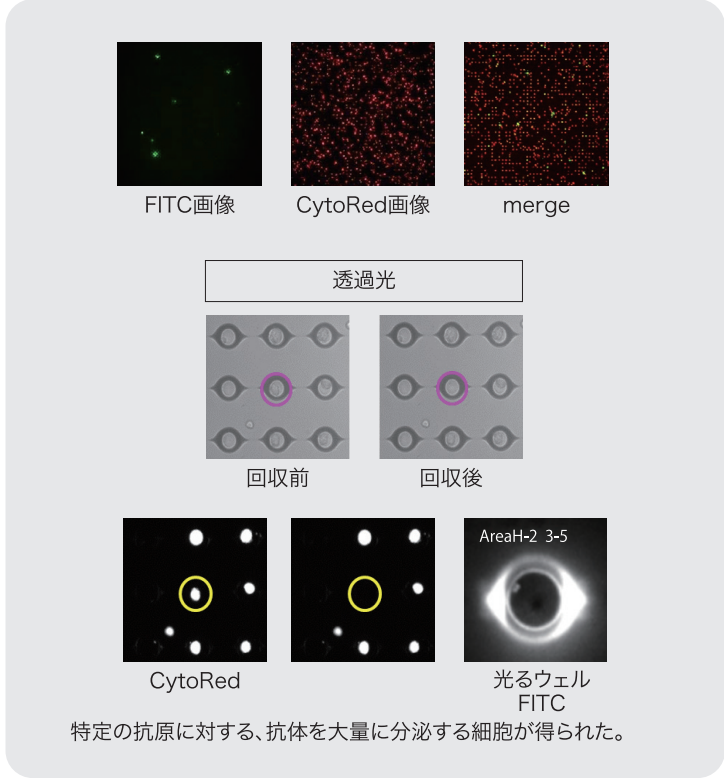
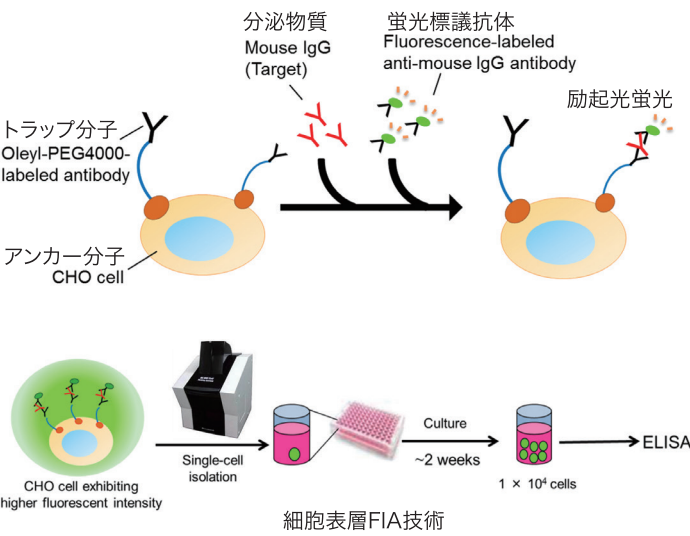
アミノ基コーティング
マイクロチャンバー

反応条件

- ① 1 mg/ml抗原or抗体: 10 μ l
- ② 抗体分泌環境: 37°C 1h
- ③ 二次抗体: 200倍希釈 室温30min
- ④ 回収条件: CytoRed(+), FITC(+)を回収

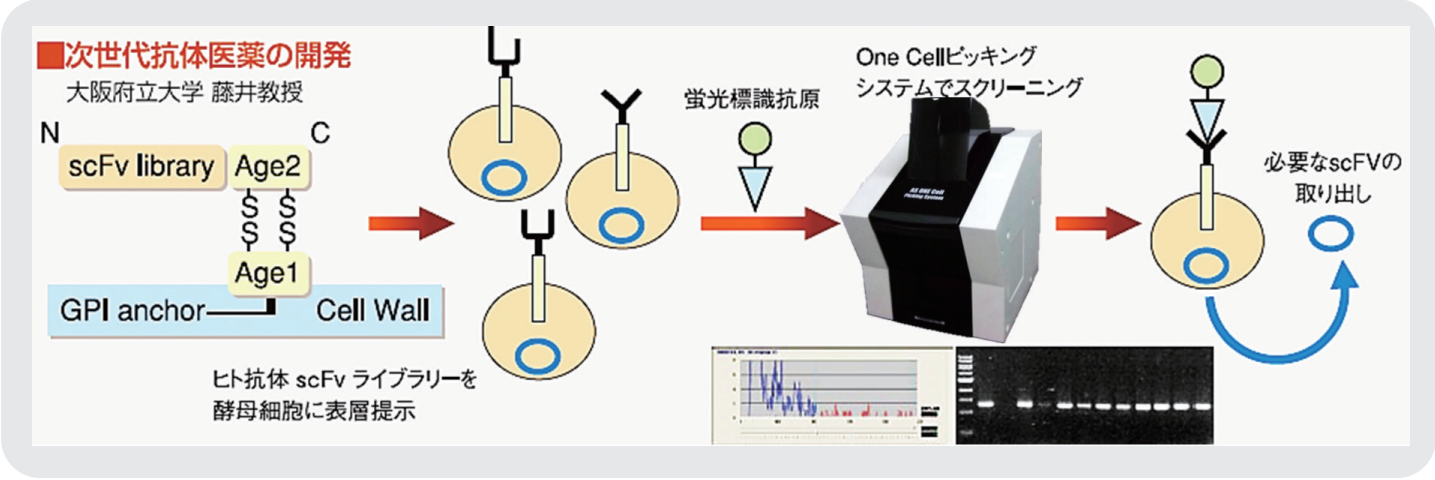
②抗体分泌細胞のスクリーニング（細胞表面FIA法）Fluorescence Immunosorbent Assay

CHO細胞が分泌する抗体を、自身の表面でトラップし、細胞表面が光る仕組みを構築。



③酵母表面提示人工抗体スクリーニング

7日間で、市販のコビキチン抗体よりも親和性の高い抗体が得られた！



④マウスES細胞のモノクローナル化

DIC Rex1 (EGFP)

Rex1 (EGFP) の発現について、コロニー内の各細胞間でバラつきが見られた

●コロニーを分離して、マイクロチャンバーに展開

●Rex1 (EGFP)の発現が高い細胞をsingle-Cell回収

●コロニー内のバラつきがなくなった！

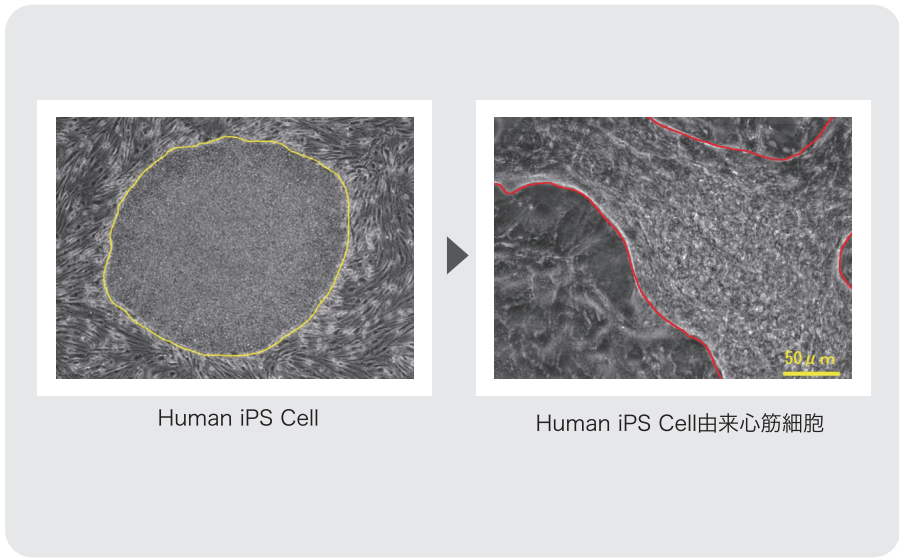
●未分化性質を維持した丸い形質のコロニーが得られた！

⑤iPS細胞由来分化細胞のシングルセル解析

iPS細胞の誘導効率は低いため、培養皿の細胞をまるごとそっと回収して解析した場合、リプログラミングが進んでいない多数の細胞の結果に、リプログラミングが順調に進んでいる少数の細胞の結果が埋没することや引き摺られてしまうことが考えられます。

ASONE Cell Picking Systemを用いて、単一細胞での遺伝子発現解析を行うことでこの障壁を回避しており、リプログラミングの際の遺伝子発現について後期での順序だった、階層的なメカニズムを提示しています。

タイムラプス解析システムと組み合わせ使用すると、分化後の細胞は新薬に対しての感受性や新薬の安全性なども検討が可能です。



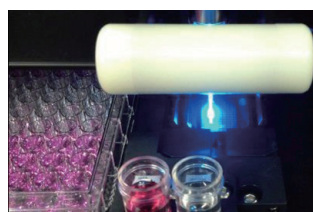
⑥ シングルセルの回収及び遺伝子解析

右図 CD8陽性細胞について、nCounter Analysis Systemを用いた191遺伝子の発現量の解析結果

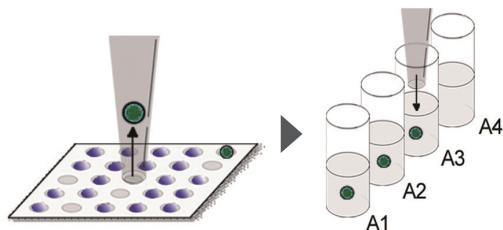
左：シングルセル解析・・・1細胞、10細胞、100細胞ごとに解析
右：従来の集団解析・・・上記をそれぞれ平均化した結果
緑色：高発現、黄色：中発現、赤色：低発現

解説

- 細胞は、一個ずつ遺伝情報の違いが存在しており、全く同じ遺伝情報を持つ細胞は基本的には存在しません。
- 遺伝情報が異なると、細胞としての機能・性格も異なる。
- 従来の小集団解析の場合、その集団に存在する細胞情報は、集団として平均化されてしまいます。
- しかし、シングルセル解析を行うことにより、類似の性格を持つ細胞集団と認識していた細胞が、実はかなりのバラつきがあることが分かりました。
- シングルセル解析によって、本当に有用な細胞（例：分化能の高い、発現量の高い、分泌能の高い etc.）の遺伝情報を詳しく調べる需要が拡大しました。



ASONE Cell Picking System

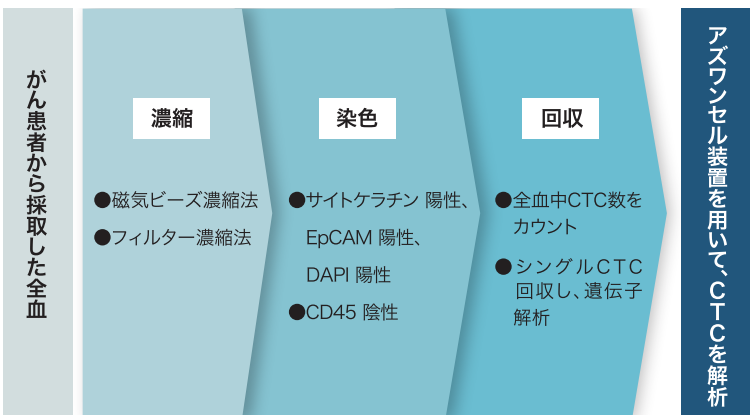


nCounter Analysis System

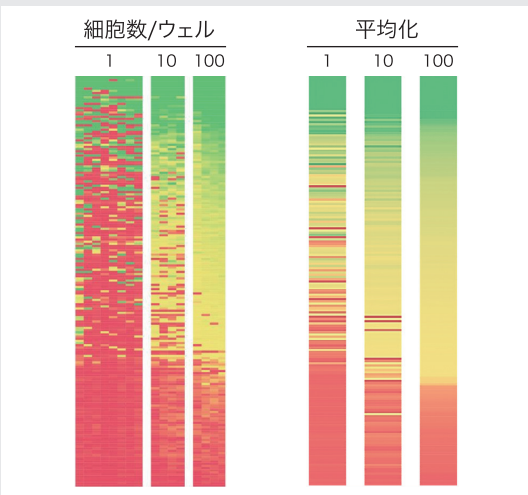
⑦ CTC解析及び回収

現在、末梢血中のがん細胞の数を測定するCTC検査が注目されています。CTC (Circulating Tumor Cells)とは、「血中循環腫瘍細胞」または「末梢血循環腫瘍細胞」のことであり、原発腫瘍組織または転移腫瘍組織から遊離し、血中へ浸潤した細胞と定義されています。

ASONE Cell Picking Systemを用いて、CTCの数および各CTCに発現しているバイオマーカーや、遺伝子の変異、増幅、融合などを調べることで、CTCのキャラクタリゼーションに関する研究に適用できます。

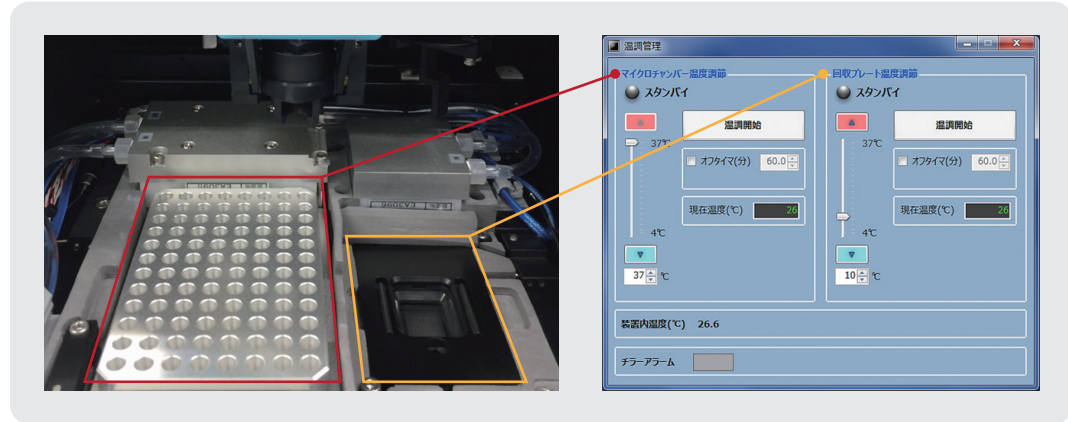


各種方法濃縮したCTCの回収が対応可能です。



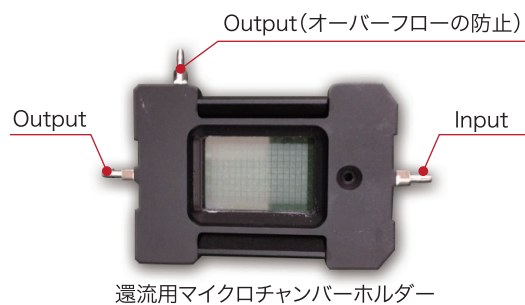
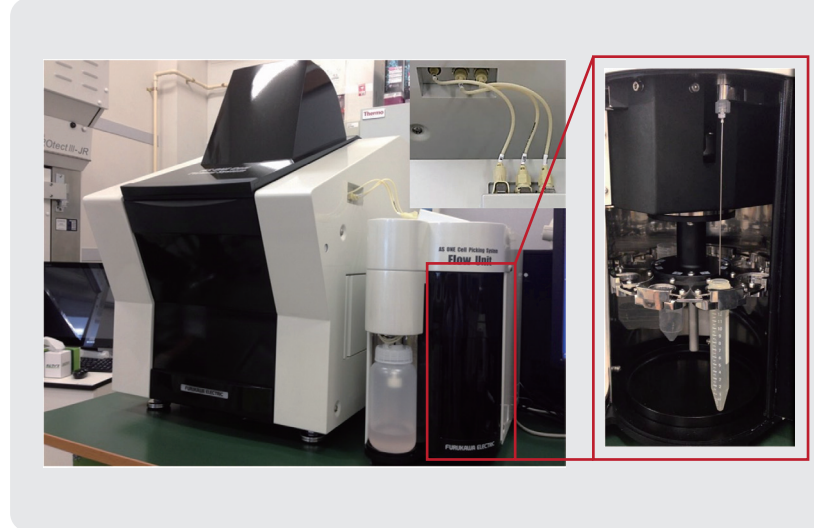
シングルセル解析の必要性
CD8+Cell Gene Expression Profile(191 probes)

① 温調機能



プレート側設定温度：4℃～37℃
①細胞回収後再培養場合(37℃)
②細胞回収後遺伝子解析場合(4℃)
チャンバー設定温度：4℃～37℃

② 還流システム



還流用マイクロチャンバーホルダー

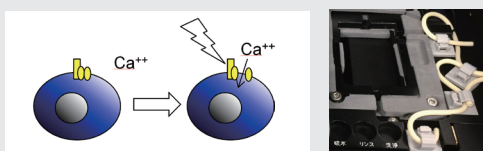
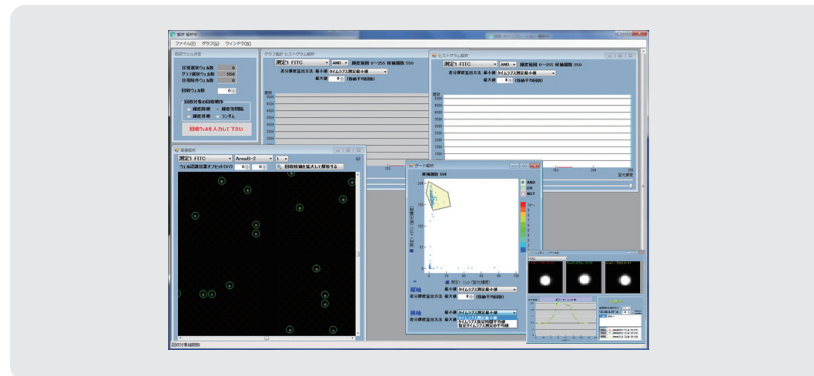
自動還流ユニット機能

- ホルダー内のバッファー置換（化合物、培地、PBSなど）
- チャンバー上の浮遊細胞の除去
- 最大4種類の溶液をセット可能、インプットする容量、流速、タイミングを制御することが可能

試薬	Buffer
ポート1	ポート5
ポート2	ポート6
ポート3	ポート7
ポート4	ポート8

③ タイムラプス解析&回収

還流システムとタイムラプス解析ソフトウェアを搭載することで、薬剤反応に対するCa²⁺タイムラプス解析が可能になります。タイムラプス解析の後、目的の細胞を回収できます。限定したエリアについて、繰り返し撮影し、継続的な変化を解析します。タイムラプス解析モデルは、10倍対物レンズに加え、オプションの4倍対物レンズを搭載することで、広視野撮影により、数万個規模の個別の細胞を、約7秒間隔のタイムラプスでデータを取得できます。



外部の刺激に対して応答しカルシウムの流入を促す(神経細胞 etc.)

