

Cell Line Development

細胞株開発

Cell Cloning 細胞クローニング

あらゆる細胞株開発は細胞クローニングから始まります。

細胞クローニングの目的は、望ましい性質をもつ単クローン性(モノクローナル)細胞集団を創り出すことです。

トランスフェクション効率 Transfection Efficiency

細胞クローニングの最初のステップは、しばしば、外来の遺伝子を宿主細胞のゲノムに組み込むためのトランスフェクションを含みます。多くの場合、トランスフェクション効率を検査するために GFP のような蛍光マーカーが用いられます。トランスフェクション効率の定量化は、ユーザー依存的で時間を消耗する手動の顕微鏡観察や、難しく時間のかかるフロー・サイトメトリーに頼ります。対照的に、Cellavista はマイクロプレート全体の光学画像解析を経て、数分以内にトランスフェクション効率を容易かつ正確に定量化することができます。

FACS(蛍光標示式細胞分取器)播種管理 FACS Seeding Control

トランスフェクションの後、FACS(フローサイトメーター)装置は、しばしば、トランスフェクションされた蛍光細胞を非蛍光細胞から分離するのに用いられます。トランスフェクションされた細胞は、その後、単クローン由来のコロニーをつくるためにマイクロプレートに播種されます。しかしながら、この播種ステップの効率は、多くの場合、細胞選別やその直後の細胞死により 100%以下になります。通常、非効率的な播種は数日後の成長したコロニーを手動の顕微鏡観察によってのみ検出されます。



Cellavista は、FACS(フローサイトメーター)播種後の早い段階で、蛍光細胞を検出します。

画像は、最初の細胞分裂の後の蛍光細胞を表しています。

Cellavista はマイクロプレート全体の蛍光細胞を解析することにより、退屈で時間のかかる手動の顕微鏡観察の必要なく、FACS ソーティングの 2 日後という早さで、蛍光細胞を含むウェルを検出することができます。

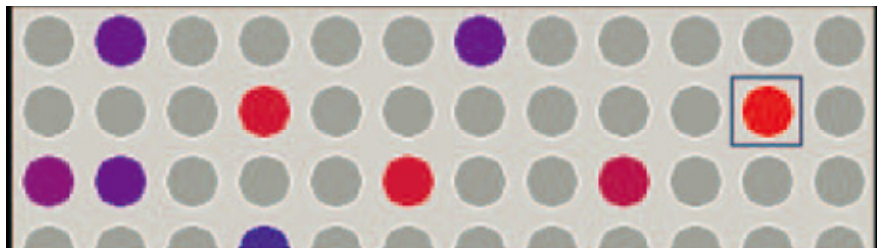
コロニー・サイズ、表現型、単クローン性 Colony Size, Phenotype and Monoclonality

蛍光の使用に関わらず、細胞クローニングの最終的な目的は下記のような細胞コロニーを生成することです。

- ・ 望ましい表現型（例えば特定のタンパク質の発現）を表す
- ・ 単クローン由来である
- ・ 将来のスケールアップのための良質な成長を示す

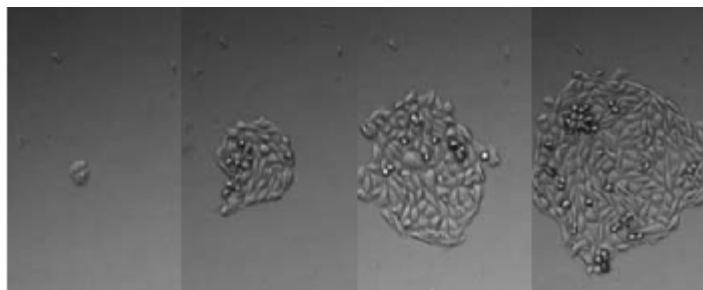
Cellavista はこれらすべての問題に対処します。

最初に、ひとつのコロニーを含むすべてのウェルは自動的に画像解析ソフトウェアによって検出され、ユーザーに表示されます。このステップは、対象コロニーの更なる選択基準として蛍光を任意に適用できます。

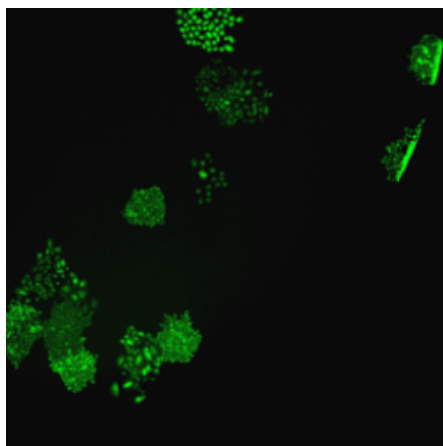


クローニングのために、Cellavista のヒート・マップは1つのコロニーだけを含むウェルを全て表示します。ウェルの色はコロニーのサイズを示します。

次に、最初の日まで遡ってコロニーの成長を追跡することにより、単クローン由来のコロニーを検証することができます。コロニーの大きさは成長速度と比例しており、更なる選択基準として使用することができます。発現タンパク質に蛍光ラベリングが施されている場合は、タンパク質発現レベルに相関する平均蛍光強度が同様に算出されます。



コロニー成長を経時的にモニターすることができます。時間を遡ったトラッキングにより、単クローン性の判定が可能になります。算出されたコロニー・サイズは選択基準として使用することができます。



Cellavista の蛍光機能を使用することにより、コロニーの蛍光強度を更なる選択基準として使用することができます。

Upscaling スケールアップ

コロニー選択の後、更なる特徴付けと細胞培養のスケールアップが必要とされます。

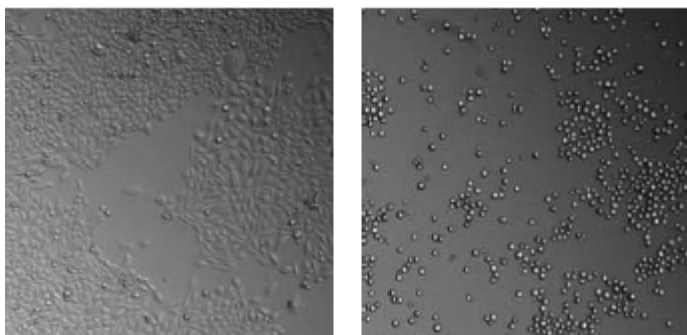
分裂増殖アッセイとタンパク質発現 Proliferation Assays and Protein Expression

Cellavista は細胞増殖の研究を行うために用いることができ、正確に培養細胞の成長速度を測定します。

懸濁細胞については、Cellavista は染色の必要なく、ウェル当たりの細胞の数を計測します。

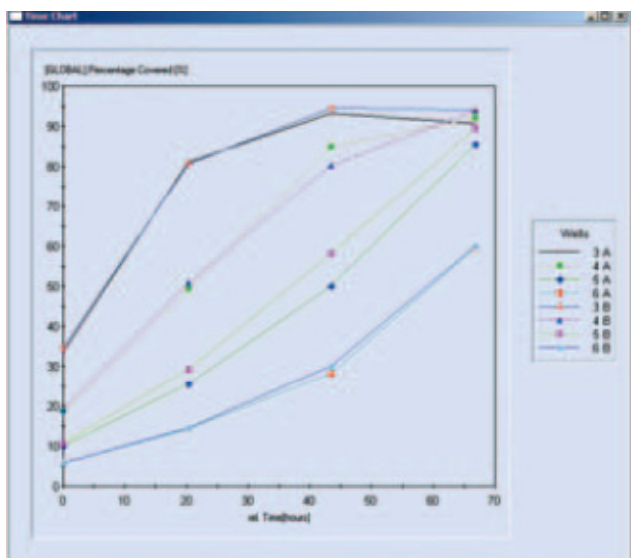
接着細胞に対しては細胞密集度が決定され、その密集度は細胞数と密集度の関係を表す検量線を作成することにより、容易に細胞数に変換することができます。

さらに、蛍光ラベリングされたタンパク質を含む細胞の場合、蛍光強度に対する細胞面積(領域)を解析することができます。Cellavista は実際の細胞面積で見つかる蛍光だけを解析することにより、バックグラウンド蛍光の混在を回避し、従来の ELISA リーダーよりも特異的で感度の高い計測能力と、より高品質なシグナル・ノイズ比を提供します。



細胞密集度の定量により、接着細胞の増殖を計測できます。

パワフルな Cellavista 画像解析ソフトウェアにより、懸濁細胞は個々にカウントできます。



反復計測により成長曲線の算出が可能になります。

細胞直径・細胞形態のような更なるパラメータも、同様にモニターすることができます。

管理と記録 Control and Documentation

培養中に細胞が進化し、成長や発現の変化を引き起こす遺伝的变化を被ることが知られています。

Cellavista は、小さな T-フラスコまでの、培養中の細胞の徹底した管理と記録を可能にします。

培地の最適化 Media Optimization

細胞増殖アッセイは最良の培地組成を決定するためにも役立ちます。

培地組成は細胞成長とタンパク質発現のために決定的である可能性があります。

Cellavista を用いれば、細胞成長および／またはタンパク質発現レベルに関して、数日以内に何千もの異なる培地組成物や添加物を容易にスクリーニングできます。

最適となるよう決定された組成物のパフォーマンスは、その後、より大きな培養容器またはバイオリアクターにて検証可能です。

Cellular Assays 細胞アッセイ

プレートの品質 Plate Quality

生成の後、細胞株はしばしば、マイクロプレートで行われる細胞アッセイのために使われます。

Cellavista は細胞アッセイ開発の領域において、いくつかのアプリケーションを提供します。

マイクロプレートを用いた細胞アッセイ（例えば化合物スクリーニング）の成功のための秘訣は、シンプルな法則にまとめられます：

「すべてのウェルが等しくあること」

マイクロ・プレートの状態や各ウェル内の細胞に関連した様々な要因は、潜在的にアッセイに影響を与える可能性があり、全体としてアッセイ結果に疑問を与える可能性さえあります。

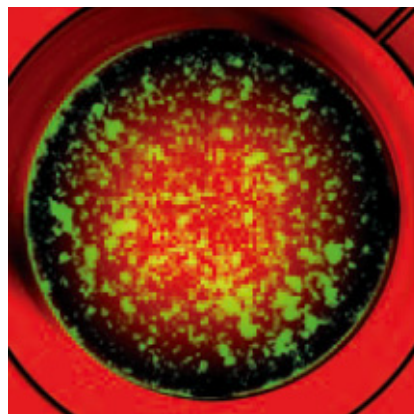
ウェルからウェル、プレートからプレート、スクリーニングからスクリーニングにおいて、一貫性に影響を与える要因は以下を含みます：

- ウェル底面の光学的品質
- 化学コーティングの品質
- 蒸発速度
- ウェル当たりの細胞の数
- ウェル底面での細胞の分布
- 細胞の形態

Cellavista はウェル毎にこれら全ての要因をモニター・記録します。それゆえ、貴重な資源が無駄になる前に、全ウェルとプレートに対して比較可能なアッセイ条件を確保します。



マイクロプレートの底面のかすり傷やアーチファクトは、細胞アッセイの結果に影響を及ぼす可能性があります。Cellavista は、ウェル底面の品質をモニターするために利用することができます。



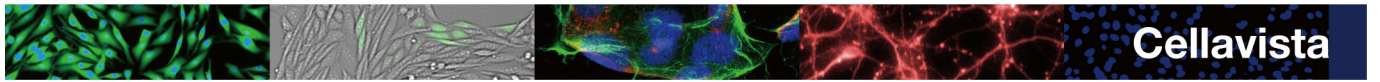
ウェル内の細胞の濃度や分布でさえ、細胞アッセイの成功のための重要なパラメータです。

Cellavista は、これらのパラメータを決定・視覚化し、アッセイの品質を向上させるためのパワフルなツールです。

アッセイ開発 **Assay Development**

Cellavista はまた、最適な開始細胞密度、細胞・試薬の濃度と充填容量のような主要なパラメータに関して、アッセイ開発の最適化フェーズをサポートします。

Cellavista は細胞クローニング・スケールアップ・アッセイ開発における多くのアプリケーションを備えており、細胞株開発のための最適なツールです。



Cellavista



日本総代理店：
プライムテック株式会社
www.primetech.co.jp

東京都文京区小石川1-3-25 小石川大国ビル9F
Phone：【本社】03-3816-0851(代表) 【大阪】06-6310-8077
E-mail：sales@primetech.co.jp