

CloneSelect 高通量单细胞分离系统

亲眼见证单克隆性

主要特点

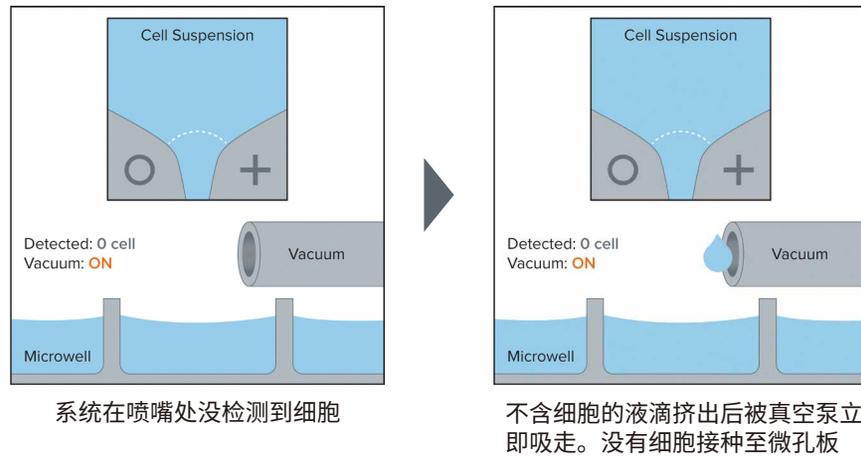
- 单细胞分离、成像并接种至 96 或 384 孔板
- 克隆成活率提高至最多 8 倍
- 一次性无菌微流控分离槽确保细胞健康无污染
- 明场或荧光分离细胞

CloneSelect™ Single-Cell Printer™ 高通量单细胞分离系统使用专有的喷墨式一次性的单向分离槽，轻柔而高效地分离单个细胞。使用高分辨率的明场或荧光成像对细胞进行分离，并且每个单细胞可捕获 5 张图像。该系统可提供单克隆性证据，提高分离效率，维持乃至提升细胞活率，并防止交叉污染。

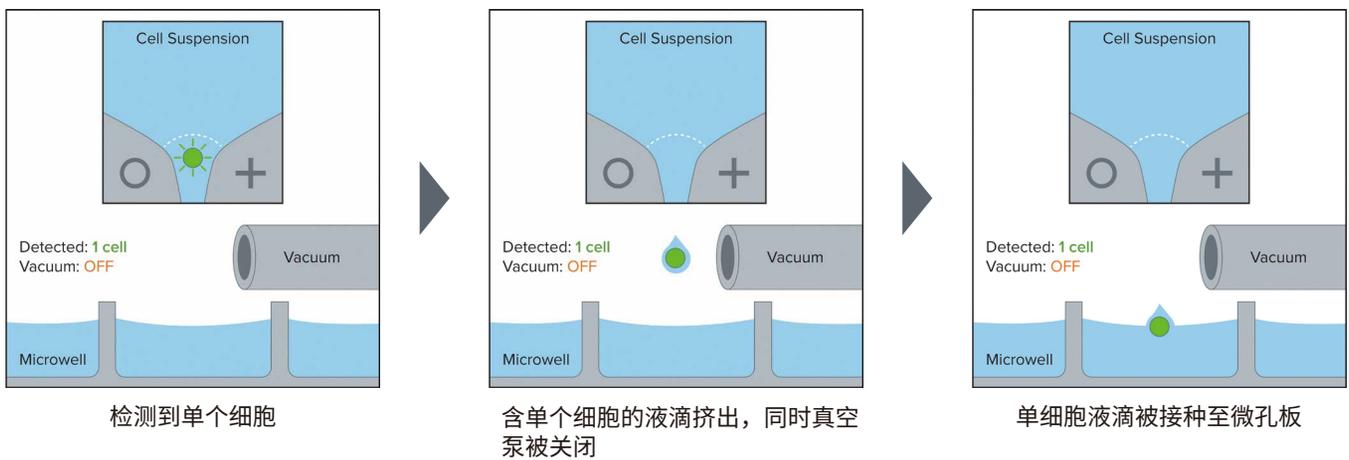


CloneSelect 高通量单细胞分离系统的工作原理

不含细胞的液滴



含单个细胞的液滴



含多个细胞的液滴

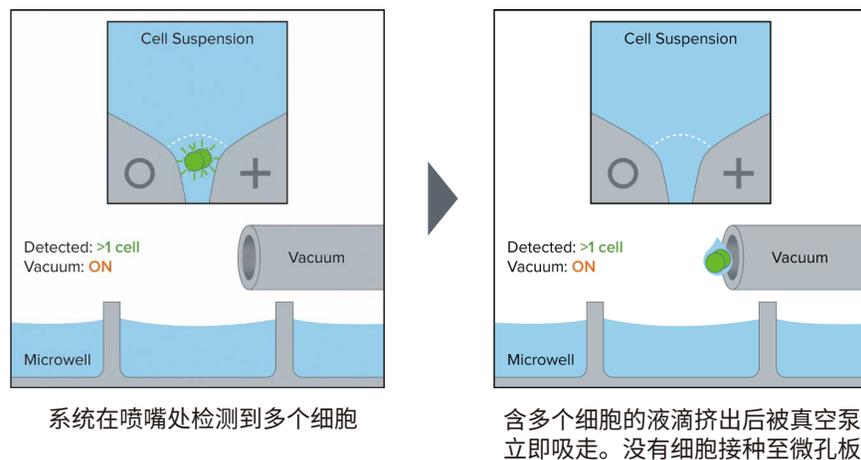


图 1 单细胞分离和接种的工作原理。



图 2 单细胞分离系统使用的一次性、无菌细胞分离槽。

一次性细胞分离槽

CloneSelect 高通量单细胞分离系统的核心是专有的单细胞分离技术，它可以实现自动分离单细胞至标准 96 和 384 孔板。该系统采用一种喷墨式原理，其特点是使用无菌的、一次性的单向细胞分离槽 (图 2)。

分离槽可加入至多 80 μL 的细胞样品，密度范围为 $0.5\text{-}1 \times 10^6$ 个细胞/mL。分离槽中的微流控芯片会产生含有单细胞的微液滴，并将单细胞接种到微孔板的每个孔中。分离槽为一次性使用，节约清洗验证时间并避免交叉污染。

本系统通过高放大倍数和大景深的相机来捕捉一系列细胞图像，以确定每个液滴中的细胞数目。当自动检测到多个或零个细胞时，液滴就会立即被真空泵吸走。一旦观察到具有预设大小和圆度的单细胞，系统就会自动关闭真空泵，从而使含有单个细胞的液滴能够分离到微孔板中 (图 1)。

单克隆性的图像证据

大景深相机对细胞分离槽的喷嘴部位成像以聚焦所有细胞。智能图像分析算法实时准确地检测单细胞事件。当一个单细胞沿着喷嘴尖端向下移动到微孔板上时，捕获连续的 5 张图像，从而比单张图像提供更多的单克隆性证据 (图 3A)。

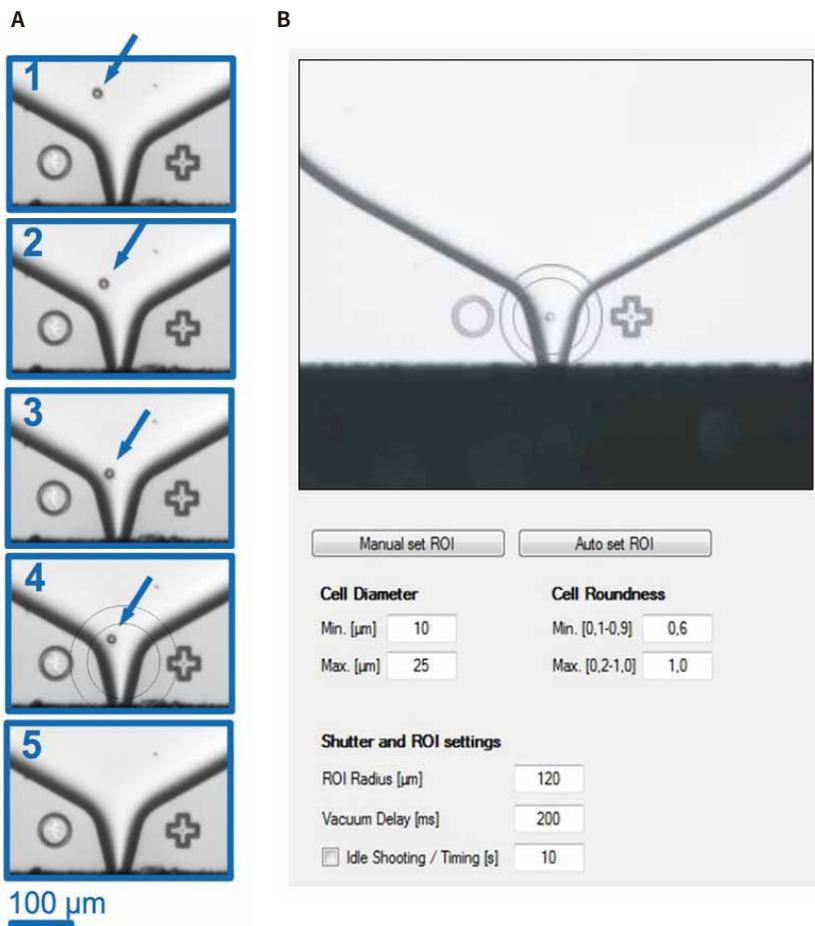


图 3 (A) 在细胞分离槽喷嘴上捕捉 5 张连续图像，提供单细胞接种的证据。这些图像描述了一个单细胞在从喷嘴尖端出来之前所经过的路径。图 1-3 显示细胞靠近喷嘴。图 4 显示对单个细胞的检测 (内圈) 并确认邻近区域 (外圈) 没有其他细胞。最后，图 5 显示液滴挤出后的喷嘴，证明单细胞离开喷嘴。(B) 设置细胞筛选参数的软件界面。用户可以根据细胞的大小和形态选择细胞，确保不需要的物体 (碎片、分裂细胞和不健康的细胞) 不会被接种到微孔板里。

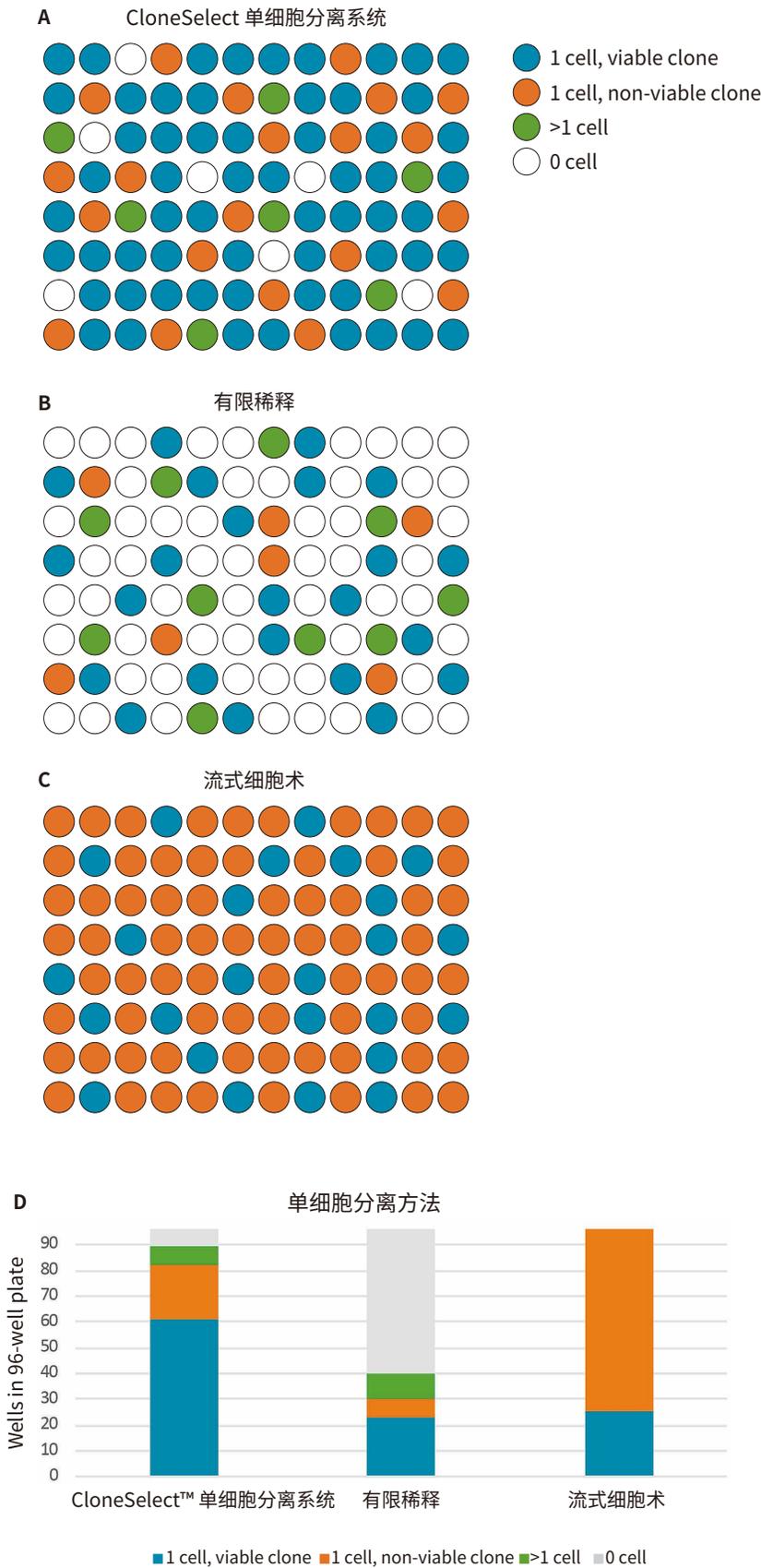


图 4 与传统方法相比，CloneSelect 单细胞分离系统具有明显的优势，显著地提高了单细胞分离效率和存活率

* 基于预测的数据。对于有限稀释，单细胞分离效率为根据 0.5 个细胞/孔的接种密度计算的理论值。对于流式细胞术，存活率差异显著，据报道为 5-50%，因此，取平均存活率 25%。

提高单细胞分离效率

目前细胞株开发中使用的单细胞分离方法存在明显的不足，比如单细胞分离效率低，以及缺少单细胞图像证据。

有限稀释法是常用的分离单细胞的标准技术，它依赖于统计概率来实现单细胞分离。采用有限稀释法的最佳分离效率也仅为 30%，而多数的微孔内含零个或多个细胞。CloneSelect 单细胞分离系统通过吸走含零个或多个细胞的液滴从而显著地提高单细胞分离效率。

维持高细胞活率

目前方法的另一个不足是分选后的细胞存活率低。例如，基于流式细胞术的分离方法只有不到 25% 的细胞活率。

CloneSelect 单细胞分离系统基于微流控的独特细胞分离技术，如移液器一般柔和。含细胞微滴缓慢而精妙地被接种至微孔板，避免其他技术采用的高压、电场或激光等条件。此外，还可以依据细胞大小和圆度的阈值来筛选和排除不完美的非活细胞。在分离健康细胞的过程中，使该系统的性能与有限稀释的效果相当。

细胞通过 CloneSelect 单细胞分离系统被分离到微孔板后，可使用 CloneSelect™ Imager (CSI) 细胞生长分析系统对单个细胞的生长过程进行连续多天的观察和成像。细胞在几天内仍然存活并形成单克隆，表明在分离后细胞的存活率高 (图 5)。

克隆成活率提高至最多 8 倍

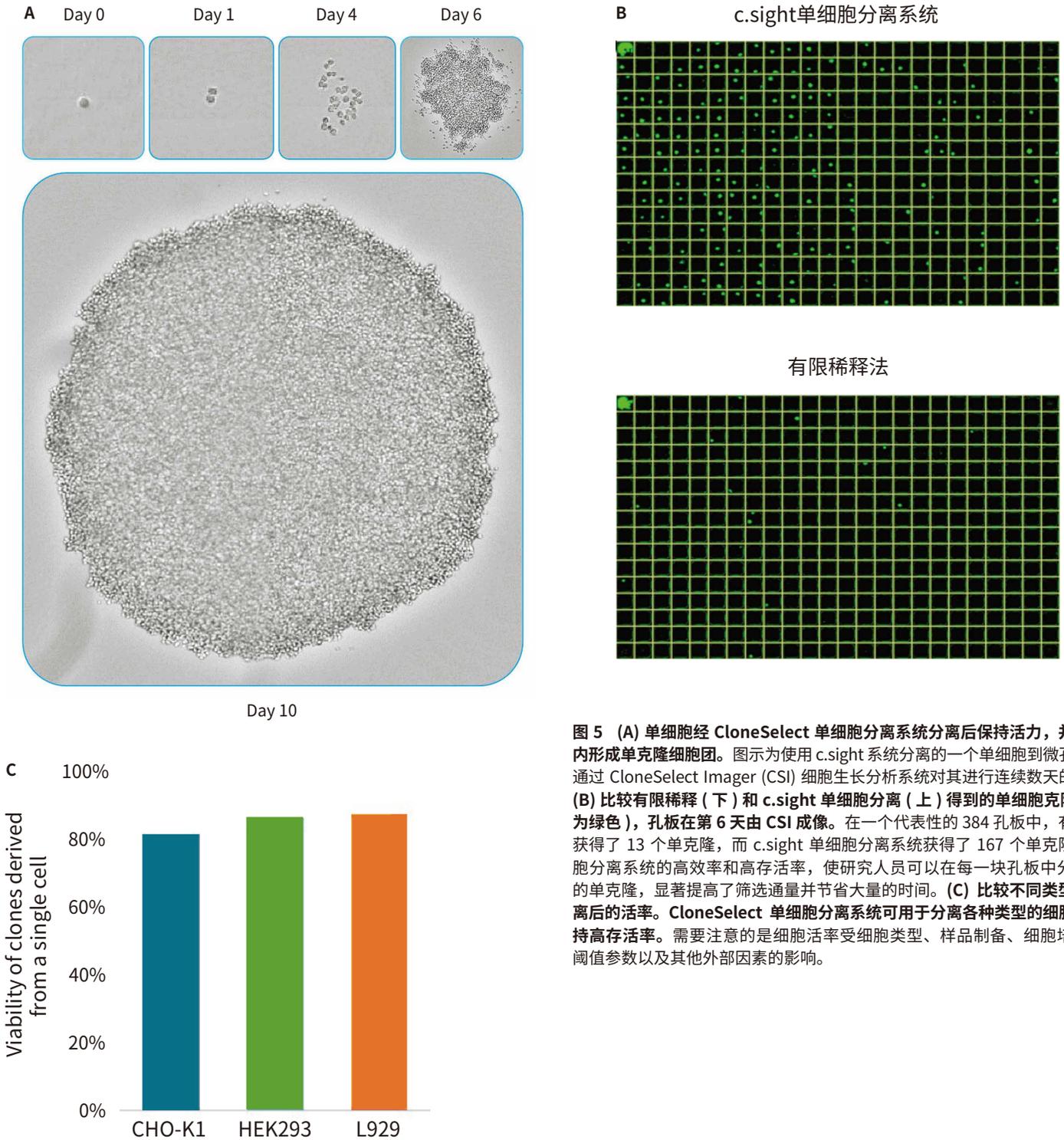


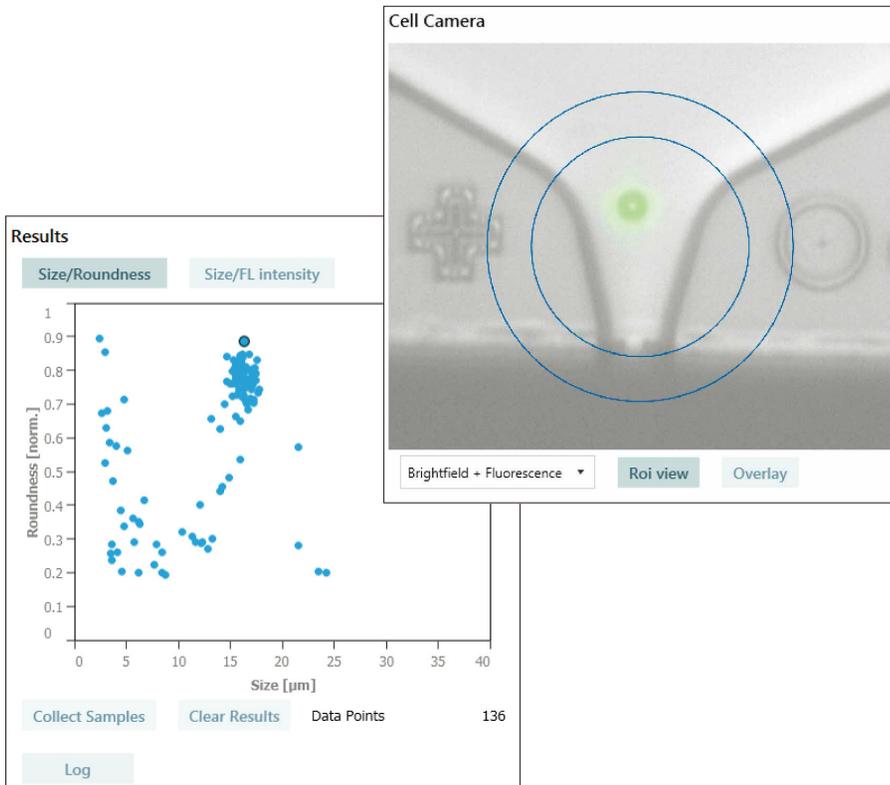
图 5 (A) 单细胞经 CloneSelect 单细胞分离系统分离后保持活力，并在数天内形成单克隆细胞团。图示为使用 c.sight 系统分离的一个单细胞到微孔板后，通过 CloneSelect Imager (CSI) 细胞生长分析系统对其进行连续数天的成像。**(B)** 比较有限稀释 (下) 和 c.sight 单细胞分离 (上) 得到的单细胞克隆 (显示为绿色)，孔板在第 6 天由 CSI 成像。在一个代表性的 384 孔板中，有限稀释获得了 13 个单克隆，而 c.sight 单细胞分离系统获得了 167 个单克隆。单细胞分离系统的高效率和高存活率，使研究人员可以在每一块孔板中分析更多的单克隆，显著提高了筛选通量并节省大量的时间。**(C)** 比较不同类型细胞分离后的活率。CloneSelect 单细胞分离系统可用于分离各种类型的细胞，并保持高存活率。需要注意的是细胞活率受细胞类型、样品制备、细胞培养基、阈值参数以及其他外部因素的影响。

不仅仅分离单细胞

利用图像分析算法还可以对细胞大小和形态进行筛选 (图 3B)。基于大小的细胞筛选可以将一个特定的细胞类型从异质的细胞群中分离出来, 或者可以筛选高活力细胞, 因为死细胞往往膨胀然后萎缩。系统还可以根据细胞的圆度进行筛选, 以确保不对称的物体如正在分裂或不健康的细胞不会被接种到微孔板中。

基于荧光的细胞分选

f.sight™ 使用新型双相机系统以超高效率对无标记和荧光标记细胞进行分选, 使您能够以全分辨率同时捕获明场和荧光图像。兼容如 GFP、FITC、Calcein AM 和 CellTracker Green 等荧光蛋白或荧光染料。



型号	CloneSelect f.sight	CloneSelect c.sight
荧光分析	√	
明场分析	√	√
计算机	内置	内置
终板容量 (96 和 384 孔板)	1 块	1 块
自动化兼容		

分离槽技术参数	
尺寸 (mm)	8.8 (W) x 16 (H) x 5 (D)
样品池体积	100 µL
加样体积	10~80 µL, 建议 50 µL
溶液兼容性	水、PBS 缓冲液和细胞培养基 *
最佳细胞密度	1×10^6 cells/mL
推荐细胞 / 微珠尺寸	5~35 µm (喷嘴尺寸 40×40µm)
分离槽无菌性	紫外灭菌 (CWL 254 nm), 无 TSE/BSE, 无动物源成分



型号	CloneSelect f.sight	CloneSelect c.sight
性能		
分离速度	明场 < 5 分钟 / 板, 荧光 < 10 分钟 / 板 *	< 5 分钟 / 板 *
认证	CE, CB, QPS 激光安全符合 IEC 60825-1 和 21 CFR 1040.10	CE, CB, QPS
系统稳定性	连续分离 5 块 96 孔板, 保持一致的效率	
操作系统	Win7 (64 位)	
数据存储	240 GB 固态硬盘	
端口	1 个 DVI, 1 个 Displayport, 2 个 GigE 网口, 4 个 USB 3.0	
手持条形码扫描器	支持 Codabar, Code 11, Code 128, Code 39, Code 93 EAN-8, EAN-13, ISBN, ISSN, MSI, UPC-A, UPC-E, IATA 25, Industrial 25 Standard 25, Interleaved 25, Matrix 25, China Postal Code, FedEx, USPS, VIN 等	
数据		
图像追踪	每孔共 15 张图片, 明场、荧光以及叠加图各 5 张, 包括接种前 3 张, 接种时 1 张和接种后 1 张	每孔 5 张图片, 包括接种前 3 张, 接种时 1 张和接种后 1 张
图像格式及大小	明场: JPEG 格式, 1280x1024 像素, 8-bit 灰度, 每张图片 300 kb 荧光: JPEG 格式, 1280x1024 像素, 8-bit 灰度, 每张图片 70 kb 叠加模式: JPEG 格式, 1280x1024 像素, 24-bit 灰度, 每张图片 320 kb	JPEG 格式, 1280x1024 像素, 8-bit 灰度, 每张图片 200 kb
数据大小	每块 96 孔板 310 MB	每块 96 孔板 110 MB
仪器技术参数		
仪器尺寸 (mm)	600 (W) x 240 (H) x 400(D)	
仪器重量	35 kg	32 kg
计算机尺寸 (mm)	内置	
计算机重量	内置	
空间需求	标准生物安全柜	
电源	两个电源插座: 100~240 VAC, 50~60 Hz 最大输入电流: 1.4 A 最大功耗: 133 W	



型号	CloneSelect f.sight	CloneSelect c.sight
仪器技术参数 (续上)		
光源	LED 光源 1: 白光, 1 W LED 光源 2: 红光, 3 W 激光光源: 473 nm, 100 mW	LED 光源 1: 白光, 1 W LED 光源 2: 红光, 3 W
荧光检测	激发光: 473 nm 发射光: 525/20 nm 激光能量: 1-100 mW 可调 曝光时间: 0.1-20 ms 可调 兼容荧光分子: GFP, Cell-Tracker Green, FITC, Calcein-AM, DyLight	无
环境条件	温度: 10° -30 °C 湿度: 10-80% (无凝结)	
相机	8-bit 灰度, CMOS 相机, 单色	
图像分辨率	明场: 1280x1024 荧光: 1936x1216	明场: 1280x1024
放大倍数 (数值孔径)	10 倍 (0.14 NA)	11 倍 (0.01 NA)
微孔板兼容性	SBS/SLAS 标准细胞培养板 (96 和 384 孔板) * 可定制其它板型 (6 孔板、24 孔板和载玻片等)	
	不兼容深孔板和无裙边 / 无框架微孔板	
耗材兼容性	单细胞分离槽和 Eppendorf 200µL 枪头; 选择 Mettler Toledo 适配器可兼容绝大部分枪头	
仪器灭菌	耐受 70% 酒精和紫外 (254 nm CWL)	
配件灭菌	金属活塞导向器、管路、以及 Luer-lock 连接器可用乙醇和异丙醇浸泡; 活塞和管路可以 121° C 下高压高压灭菌	



更多精彩内容
尽在官方微信

美谷分子仪器 (上海) 有限公司

全国咨询服务热线: 400-820-3586
上海 电话: 86-21-3372 1088
北京 电话: 86-10-6410 8669
成都 电话: 86-28-6558 8820
台北 电话: 886-2-2656 7585
香港

www.MolecularDevices.com.cn
传真: 86-21-3372 1066
传真: 86-10-6410 8601
传真: 86-28-6558 8831
传真: 886-2-2894 8267
传真: 852-2289 5385

Email: info.china@moldev.com
地址: 上海市长宁区福泉北路 518 号 1 座 501 室 200335
地址: 北京市朝阳区广渠东路 3 号中水电国际大厦 612 & 613 室 100124
地址: 成都市锦江区东御街 18 号百扬大厦 2208 室 610016
地址: 台北市内湖区堤顶大道二段 89 号 3 楼
地址: 香港中环皇后大道中 15 号置地广场 公爵大厦 21 楼

