

■ 製品：フローサイトメーター/セルソーター

マイクロ流路チップを用いたセルソーター On-chip Sort



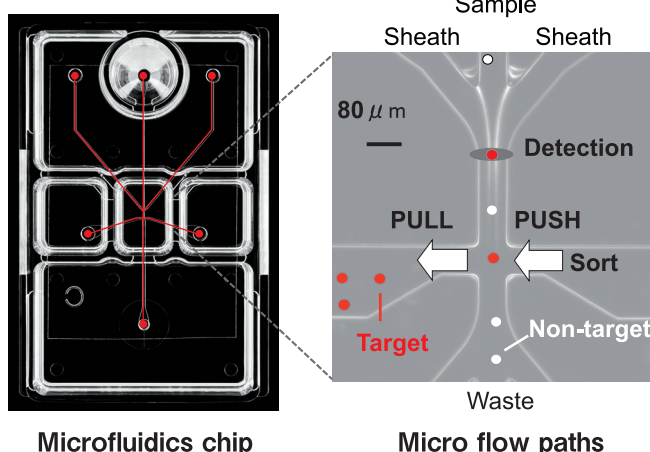
ダメージフリー！ コンタミネーションフリー！ メンテナンスフリー！

シース液、サンプル液を含むすべての流路系をディスポーザブルチップに集約したセルソーター On-chip Sort。「マイクロ流路チップ」という独自の使い捨て交換型チップにより、コンタミネーションフリー、メンテナンスフリーを実現しました。

また、細胞分離時に液面への衝突などで細胞にダメージを与えていた従来型セルソーターとは異なり、チップ内の流れを空気圧制御し細部分離を行うことで、細胞へのダメージを最小限にしました。

装置は、安全キャビネット内に設置可能な小型サイズ。最大3波長のレーザーと、最大6波長の蛍光検出器、および前方散乱光 (FSC)・側方散乱光 (SSC) 検出器を搭載しています。

ソーティング原理



細胞へのダメージ・フリー

マイクロ流路チップ内の流れを制御する独自の細胞分離方法を採用。細胞にダメージを与えず、ストレスに弱い細胞でもソーティングが可能です。

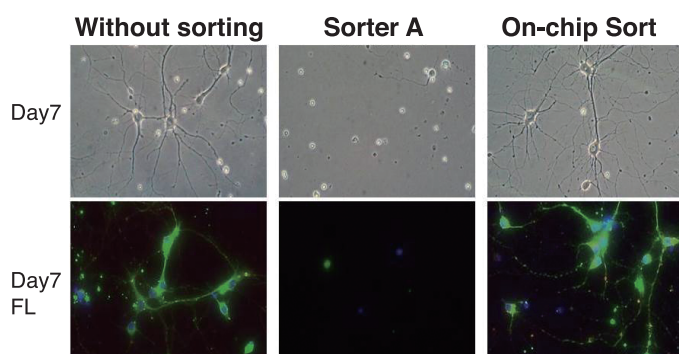
無菌環境下での分取を実現

流路系はすべて交換型のマイクロ流路チップ内にあり、滅菌済みのチップが用意されています。チップの交換によりサンプル間のコンタミはなく、エアロゾルの発生もありません。

培養液中でも分取が可能

特殊な溶液を用いることなく、シース液以外のサンプル・バッファー、培養液、海水、オイルでもソーティング可能です。

ソーティングダメージ比較



Collaboration with Dr. SUZUKI, Tokyo University of Technology.

微量サンプルに対応

10 μ l 程度の微量サンプルの全量を解析可能。貴重なサンプルの解析に最適です。

メンテナンスフリー

マイクロ流路チップは交換型なので、流路の洗浄を必要とせずメンテナンスも容易です。使用後はチップを捨て、装置の電源をオフにするだけです。

■ 末梢血循環腫瘍細胞 Circulating Tumor Cells (CTCs) の検出とソーティング

【概要】

検体末梢血4mLの血球除去前処理を実施後、一般的なCTCマーカー（サイトケラチン(CK)-FITC、EpCAM (CD326)-PE）および白血球マーカー（CD45-Alexa700）で染色後、On-chip Sortを用いてがん細胞（Circulating Tumor Cells (CTCs)）の検出と、ソーティングを実施した。その結果、EpCAMの発現量に依存しないCTCsの検出が可能であり、かつ末梢血中のさまざまなCTCsの存在が明確になった。

【目的】

近年、採血による適切な治療法の選択と治療効果のモニタリングマーカーの1つとして、血中循環腫瘍細胞（CTCs, Circulating Tumor Cells）による診断技術が注目されている。

On-chip Sortを用いてEpCAM (CD326)の発現量に依存しない末梢血中の希少CTCのソーティングを、健康人末梢血を用いた培養がん細胞の添加ブラインドテストを用い、安定的な診断およびモニタリングへの応用可能性を検討した。

【方法(1)；2施設間によるブラインド試験】

末梢血4mLにさまざまながん腫のCell line を0細胞、10細胞、100細胞、500細胞、1000細胞をスパイクし、2施設間でそれぞれの施設で血球除去処理後、一般的なCTCマーカー（サイトケラチン(CK)-FITC、EpCAM (CD326)-PE）および白血球マーカー（CD45-Alexa700）で染色後On-chip Sortを用いて検出し比較した。

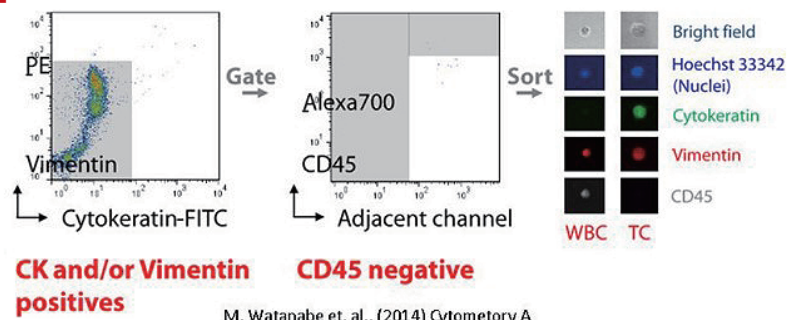
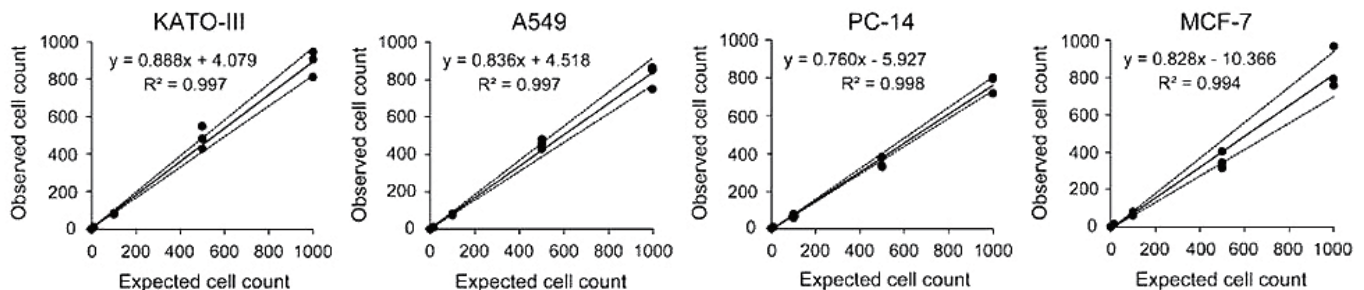


図1. CTCs検出ゲート例。血球除去処理後、一般的なCTCマーカー（サイトケラチン(CK)-FITC、EpCAM (CD326)-PE）および白血球マーカー（CD45-Alexa700）で染色後On-chip Sortを用いて検出



M. Watanabe et al., (2014) Cytometry Part A. 85A: 206-213

図2. 2施設間によるCTCs想定がん細胞スパイクテストの結果。施設間で差異無く検出出来る事が明らかとなった。

【試験方法(2)；肺がん患者末梢血のCTCの検出とソーティング】

肺がん患者検体（末梢血4mL）から赤血球を溶血させた後、CD45抗体ビーズを用いて血液細胞を除去し、サイトケラチン陽性、かつCD45陰性の細胞分画をソートした。

【結果(2)；肺がん患者末梢血のCTCの検出とソーティング】

肺がん患者ではEpCAMの発現率が低い事が明らかとなった。その結果、Cellsearchシステムに比較してOn-chip SortでCTCの陽性率が高いことが示唆された。がん患者の末梢血から得られたCD45陰性、サイトケラチン陽性分画の細胞を検出しソーティングを実施した（図3）。

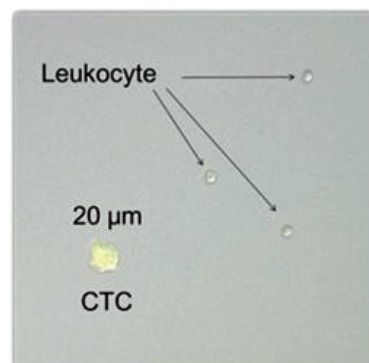
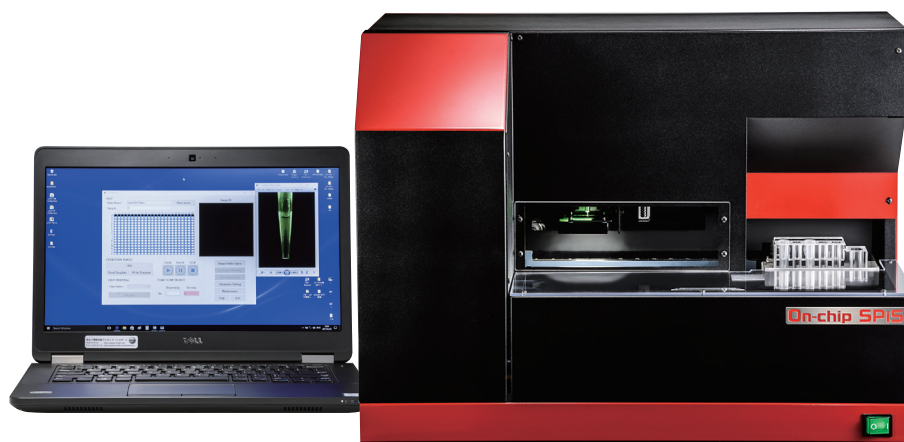


図3：血液中の循環腫瘍細胞（CTC）抗Cytokeratinや抗Vimentin抗体をもちいて標識し、検出、およびソーティングを実施しソーティング後の細胞を顕微鏡で観察した。

AACR2013: Clinical feasibility study of a novel cytometry-based-system for the detection of circulating tumor cells (CTCs) of patients with lung cancer

■ 製品：1細胞分注器

Single Particle isolation System“On-chip SPiS”(スパイス)



自動で確実に1ウェル1細胞を配置できる！

簡単操作

濃度判定、自動希釈プログラムにより複雑な希釈計算することなく最適なサンプル濃度に調整できます。

CCDカメラ認識で確実に

ピペットチップ内の細胞をカメラで認識し確実に1つの細胞をウェルに入れることができます。

バッファーを選ばない

水、培養液、オイルなどバッファーの種類を選ばずお好みのバッファーで分注可能です。細胞だけでなく細胞塊、粒子、エマルジョンを分注できます。

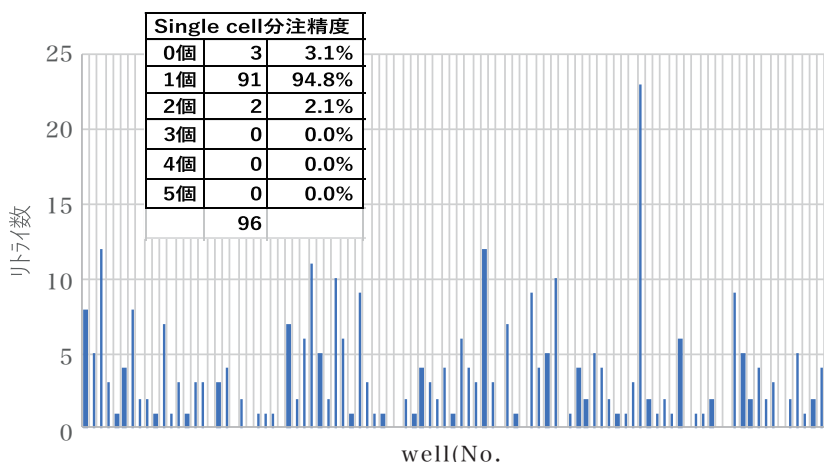


On-chip SPiSの1細胞分注の具体例 (N=3)

MOLT4細胞の認識サイズを8~16 μ mと設定し、限界希釈で0.744 cells/0.3 μ lに調整されたサンプル液を1細胞/wellになるよう分注した。この実施例では1細胞確認のリトライ数は平均3.5回(下図)、96wellへ1細胞ずつ分注するに要した時間は1時間35分であった。1細胞分注精度は94.8%。同様な実験を複数回繰返した結果、平均分注精度は93.4%、平均所要時間は1時間32分であった(n=3)。

日時	2017/4/13 17:06-18:11+18:22-18:42
細胞	MOLT4 /x10TbufferBSA
溶液	x10TbufferBSA
リトライ総数	337
平均リトライ回数	3.510416667
分注時間	1時間35分
分注well	96
SPiS平均細胞数	0.74378378
指定サイズ*以下数	0.19027027
指定サイズ*以上数	0.03459459

2017/4/13MOLT4/x10Tbuffer(7-16)分注リトライ1個濃度



On-chip SPiS(オンチップ スパイイス)

製品番号	70001
装置構成	本体 制御PC(Windows)
本体サイズ	幅 610 mm × 高さ 450 mm × 奥行 365 mm
分注方式	使い捨てピペットチップ
認識方法	解像度 5メガピクセルCMOSセンサー内臓カメラによる画像認識
チップ内液量	0.3 μ L
サンプル	細胞、花粉、原生生物、細胞集塊、人工粒子(ビーズ)など
認識サイズ	10~200 μ m(培養細胞株で確認)(ビーズ等の粒子は3 μ m程度も認識可能)
分注精度	90%以上(サンプル状態に依存)
バイオセーフティ	安全キャビネット内に設置可能
ダメージ	細胞等へのダメージは低
攪拌方法	使い捨てピペットチップによる自動攪拌
溶液	水、培養液、海水など
処理速度	約90~140min/96well(参考時間:設定条件とサンプル状態による)
対応プレート	96wellプレート、384wellプレート

On-chip Sort(オンチップ ソート)

光学系と検出感度	レーザー	最大3本(405 nm、488 nm、561 nm、637 nm、785 nm)
	測定パラメーター	前方散乱光(FSC)、側方散乱光(SSC)、6PMT(10パラメーターまで)
	サイズ検出感度	FSC < 0.5 μ m、SSC < 1.0 μ m
	蛍光感度	< 200 MESF FITC
	データ分析能	4 decades, 18 bit
	パルス解析	Height、Area、Width
	検出波長	FL1(445/20 nm)、FL2(543/22 nm)、FL3(591.5/43 nm) FL4(607/24 nm)、FL5(676/37 nm)、FL6(>710 nm)
流路系統	フローセルチップ	交換型マイクロ流路チップ
	チップ素材	アクリル樹脂(PMMA/COP)
	流路サイズ	80 μ m × 80 μ m
	流速(m/s)	500 mm/sec
	シースバフアー	FBSを用いた培養液も利用可能
	サンプル・ボリウム	10 ~ 100 μ l
	シース・ボリウム	1 ~ 3 mL
解析とソーティング	ソーティング手法	マイクロ流路内Flow Shift方式
	純度	> 95% (細胞濃度による)
	収率	> 80%
	細胞ダメージ	なし
	コンタミネーションフリー	コンタミネーションなし チップ交換により全流路交換
	無菌・バイオハザード対応	あり
	送液圧力	0.3PSI
	解析速度	4,000 events/sec
	分取速度	100 targets/sec
	操作開始までの時間	5分
	シャットダウン	10秒(クリーニング不要)
安全性	エアロゾルの発生	なし
サイズと重量	サイズ	幅 620 mm × 高さ 330 mm × 奥行 390 mm
	重量	45 kg
制御PCと制御速度	PCとソフトウェア	ノートパソコン
	OS	Windows 7、64 bit
	データフォーマット	Own format and FCS3.0
電源	電源入力	AC100~240V、50/60Hz
	消費電力	z< 240 VA

On-chip SPiS、On-chip Sortは、株式会社 オンチップ・バイオテクノロジーズの製品です。

We Believe the Possibilities.

お問合せ先

シスメックス株式会社

日本・東アジア地域本部 R&I営業部

ソリューションセンター 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241 Tel 078-992-6272 Fax 078-991-2317

東京支社 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557

<http://sysmex-fcm.jp>



注：活動及びサイトの適用範囲は規格により異なります。
詳細は www.bv.com の ID 0910589004 を参照。
Note: Scopes of sites and activities vary depending on the standard.
For details, refer to the ID 0910589004 at www.bv.com



*外観、仕様等については改良のため予告なしに変更することがあります。

G17100101