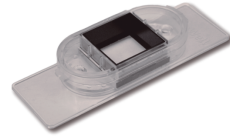
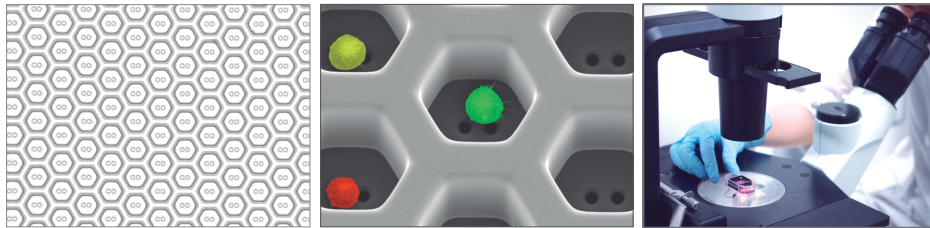


SIEVEWELL™

Cell capture device



- シングルセルサイズの微細ウェル構造のフィルター
- ナノウェル数 370,000個 (20 μmタイプ)、90,000個 (50 μmタイプ)
- 透明、低自家蛍光素材、生体適合性素材
- デバイス内でダイレクトに免疫染色、イメージング
- 細胞の培養、各種アッセイも

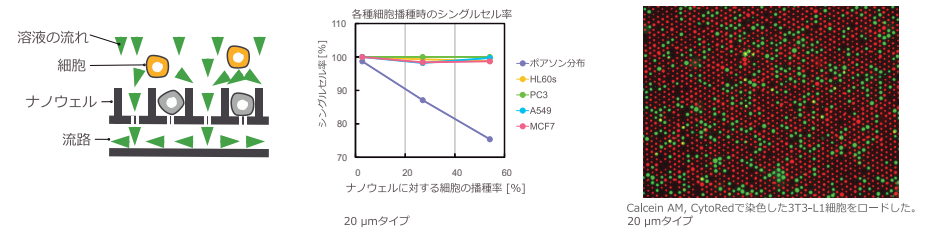


- デバイス内染色によるサイトメトリー
- ゲノム編集や安定発現細胞株のクローニングのサポート
- 浮遊細胞の位置固定による定量性の向上

シングルセルの捕捉

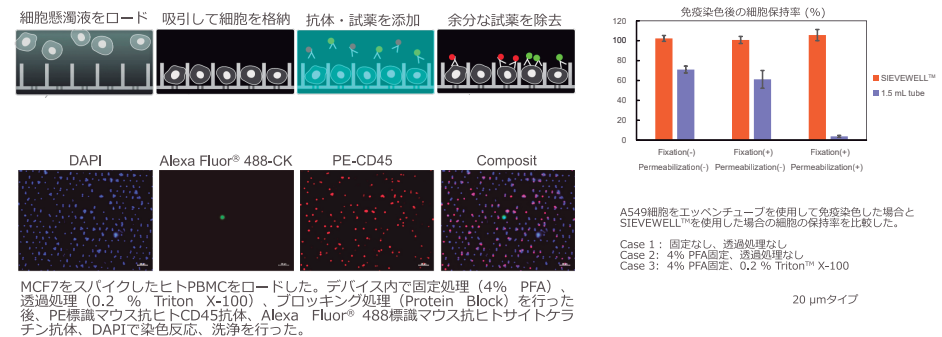
多様な細胞の機能解析のためにシングルセルを回収して分析が行われています。ガラスキャピラリーなどを利用してシングルセルを回収する場合、回収対象となる細胞が他の細胞と重なり合っていると回収は困難です。シングルセルサイズのナノウェルに細胞を格納することで、ターゲット以外の細胞を回収するリスクが低減できます。

細胞は溶液の流れに乗ってナノウェルに格納されます。細胞が格納されたナノウェルは溶液の流れが抑えられ、格納されていない細胞は流れのあるウェルに向かいます。このメカニズムによって、ポアソン分布よりも高いシングルセル格納率を達成しています。



デバイス内染色によるサイトメトリー

免疫染色は、細胞の固定、透過処理、ブロッキング、抗体反応、洗浄といった複数のステップが必要ですが、染色操作の過程で細胞が失われることがあります。SIEVEWELL™を使用すると、デバイス内ですべてのステップを行うことができます。染色時の試薬は貫通孔を通過しますが、細胞はフィルター上に残るため、免疫染色時の細胞のロスを最小限にすることができます。希少なサンプルの免疫染色にご利用いただけます。



微細な貫通孔

微細なナノウェルの底面には貫通孔が形成されています。貫通孔よりも大きな細胞はナノウェルに保持され、培地やバッファーは貫通孔を通過します。

自立フィルター

ナノウェルが形成されているフィルターの下部には流路があります。デバイス両サイドのポートとつながっており、ポートから吸引することでフィルター上の培地やバッファーを除去、溶液の交換が可能です。

簡単操作

ポンプや特殊な専用装置は必要ありません。一般的なピペットと8連ピペットだけで使用できます。

顕微鏡観察

大きさはスライドガラスサイズですので、特殊なアダプターやホルダーを必要とせず、実験室にある顕微鏡で観察できます。


培養可能

取り外し可能なフタがついています。滅菌済ですので、播種した細胞をデバイス中でそのまま培養できます。

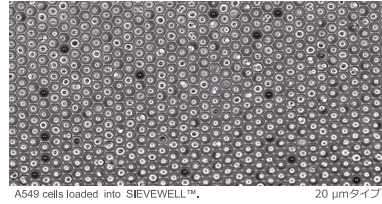
SIEVEWELL™でのオンチップ染色、シングルセル回収と解析

リキッドバイオプシーのひとつである血液循環がん細胞の検出、解析のワークフローの例をご紹介します。

**Step 1
Cell loading**



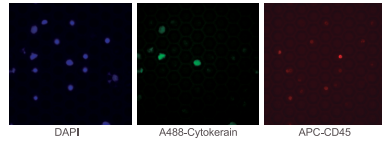
SIEVEWELL™に細胞懸濁液をロードします。細胞はナノウェルに格納されます。生細胞でも固定済みの細胞でも使用可能です。



**Step 2
Staining**



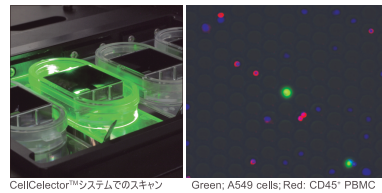
試薬を添加して、細胞の固定や透過処理、抗体や各種色素での染色、洗浄を行います。



**Step 3
Detection**



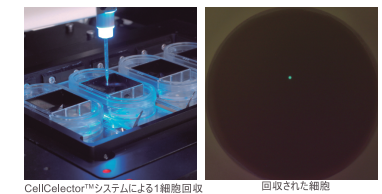
SIEVEWELL™のスキャンを行い、ターゲットの細胞を特定します。細胞はナノウェルに保持されており、スキャン前後でも位置は変わりません。



**Step 4
Recovery**



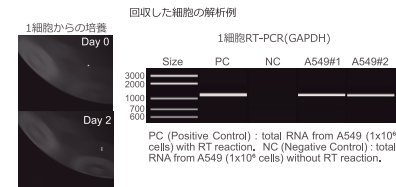
特定したターゲットの細胞をチューブや培養プレート等に回収します。自動シングルシングルセル回収システムであるCellCollector™(Automated Lab Solutions GmbH, ドイツ)、一般的な細胞回収システムが使用可能です。



**Step 5
Downstream Analysis**

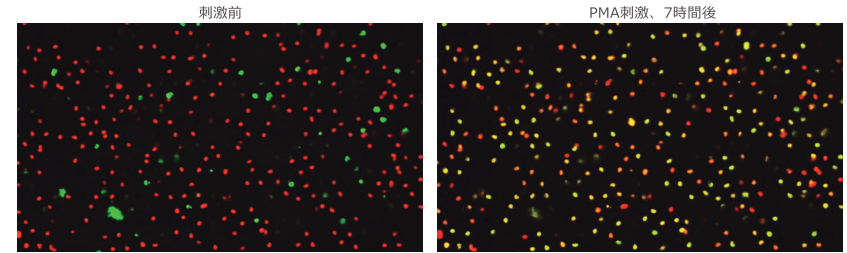


回収した細胞は、WGA、RNA-seqといった一般的な分子生物学的な分析が可能です。生細胞を回収し、培養することも可能です。



位置を保持した浮遊細胞のアッセイ

T細胞などの血液細胞は一般的に浮遊細胞であり、ディッシュやプレートへ播種した際に均一に分布し難く、培養やアッセイ中に当初の位置をキープするのは困難です。SIEVEWELL™に播種することで、細胞は均一に分布し、培養中やアッセイ中の細胞の移動が抑えられ、予期せぬ細胞同士の相互作用やイメージング時の不均一性が改善します。



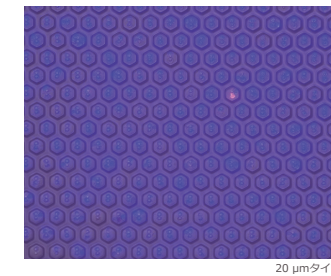
PMA刺激による好中球細胞外トラップ。1.3% DMSO添加培地で分化誘導を行ったHL-60細胞をSIEVEWELL™へロードし、PMA添加培地で培養した。培地にはSytox Green、NUCLEAR-ID Red DNA Dye添加されており、細胞外に放出されたDNAがSytox Greenによりグリーンに染色されている。赤：核染色、緑：細胞外DNA。

20 μmタイプ

CDX/PDXマウス血液中のガン細胞の検出

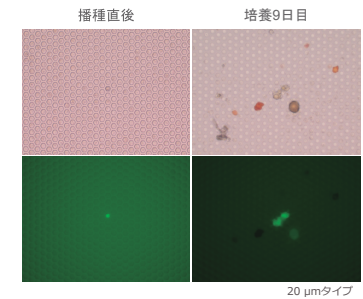
ガン細胞株を免疫不全マウスに移植したCDXモデル、患者由来ガン組織を免疫不全マウスに移植し腫瘍を再現するPDXモデルの利用が進んでいます。

マウスから採取できる血液量は少量であり、血液中の存在する移植由来のガン細胞を検出するのは困難ですが、少量サンプル中のサイズの大きなガン細胞はSIEVEWELL™のナノウェル中に捕捉されるため、発見することが可能です。



mCherry安定発現がん細胞のXenograftモデル由来の全血を塩化アンモニウム溶血した後にSIEVEWELL™にロードした。

【データご提供】
京都大学大学院医学研究科放射線腫瘍学・画像応用医理学
井上 実 先生



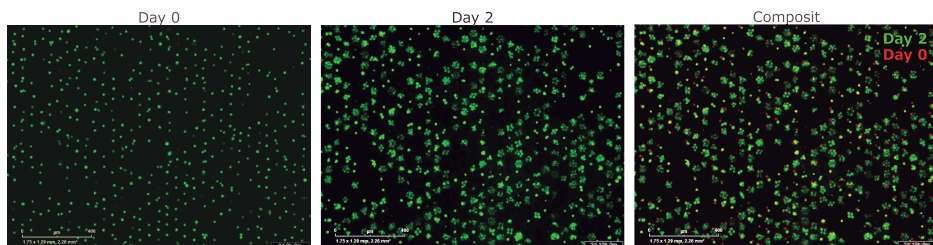
GFP陽性ヒト小細胞肺がんの肺同所移植による自然転移モデルマウスを作成した。移植後に数週間飼育し全血を回収、塩化アンモニウムにより溶血した後、1匹分全量をSIEVEWELL™にロードした。そのまま9日間培養を行い、GFP陽性コロニーを検出した。

【データご提供】
公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所 沼津支所 (微化研)
坂本 修一 先生

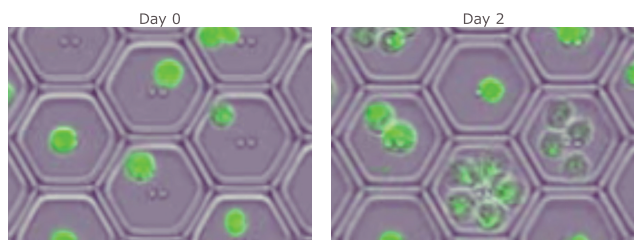
シングルセル培養

細胞の増殖をシングルセルレベルでモニタリングする場合、通常は隣の細胞と接触しないように低密度に播種するか、セルソーターや限界希釈によって1細胞となるようにマイクロウェルプレートへ播種します。しかし、シングルセルとなるように播種するのは難しく、多数のプレートが必要のため、使用する培地や試薬の量が多くなり、観察に要する時間もかかります。また、浮遊細胞を培養する場合は、細胞が定位置に留まらず、広いエリアを浮遊する1つ細胞を追跡するのは困難です。

高密度な微細なナノウェルデバイスを用いると、シングルセルレベルで多数の細胞の増殖を同時にモニタリングすることが容易です。また、細胞はナノウェルに保持され定位置に留まるため、浮遊細胞の場合でも1つの細胞の増殖をモニタリングすることが可能です。



50 μmタイプを用いたシングルセル培養
CellBrite Greenで染色したK562細胞を播種した。播種直後、培養2日後に撮影した。撮影した画像をImageJにより重ね合わせを行った。

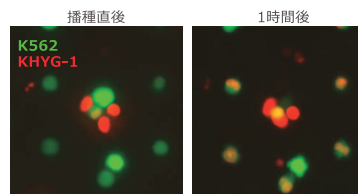


CellBrite Greenで染色したK562細胞の増殖をIncuCyte® S3 Live-Cell Analysis Systemにより経時的に撮影した。

細胞-細胞相互作用アッセイ

ナノウェルに1つ以上の細胞を播種することで、細胞同士の相互作用のアッセイをシングルセルレベルでモニタリングすることができます。

NK細胞はK562細胞に対する細胞殺傷作用を有することが知られています。Calcein AMを取り込ませたK562細胞と、NUCLEAR-ID® Red DNAによって染色したNK細胞株KHYG-1細胞をナノウェルに共存するように播種し、経時的なモニタリングを行いました。KHYG-1細胞によって傷害を受けたK562細胞からCalcein AMが流出し蛍光が消失する様子が観察されました。

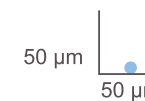
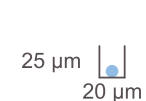


50 μmタイプ

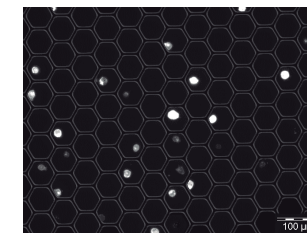
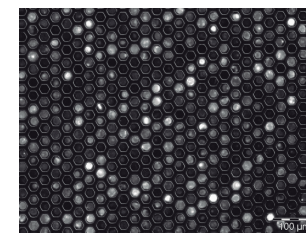
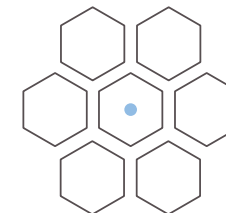
製品仕様

SIEVEWELL™ Slide

製品コード	SWS 2001-5	SWS 5001-5
ナノウェル寸法	幅 20 μm、深さ 25 μm	幅 50 μm、深さ 50 μm
ナノウェル数	370,000	90,000



● *10 μm



*K562細胞を使用

共通

外形寸法	25 mm x 75 mm x 12 mm
ウェルエリア	17 mm x 17 mm
溶液量	0.3 - 2 mL
素材	PS, PC, 生体適合性ポリマー
入数	5個入 (滅菌済み)

参考文献

Yang, L, *et al.* Implementing microwell slides for detection and isolation of single circulating tumor cells from complex cell suspensions. *Cytometry A*, 2022 Jun 14, doi: 10.1002/cyto.a.24660.

お問い合わせ

contact@siewewell.com

東京応化工業株式会社
新事業開発本部
〒253-0114
神奈川県高座郡寒川町田端1590

販売店使用欄