

開発品 商品の仕様、外観は予告なく変更する場合があります。

CELLNETTA MZM1シリーズ

シングル細胞の精製

背景

細胞懸濁液からシングル細胞だけを取り出す場面は、細胞加工の工程で多くみられます。このような場面では、シングル細胞が占める割合（純度）と細胞のダメージが、後工程の結果を左右します。そのため、高純度のシングル細胞懸濁液を愛護的に精製することは、細胞加工において重要な工程となっています。

今回、京都大学大学院 医学研究科 クリニカルバイオリソース研究開発講座 井上正宏教授が行った、CELLNETTAを用いた凝集性細胞懸濁液からのシングル細胞精製の事例をご紹介します。

実施方法

- ① KUC6細胞塊懸濁液（図1）にTrypsin EDTAを加えて、慎重に10回ピペッティングする。
- ② 10分間のインキュベート後、慎重に100回ピペッティングする。
- ③ 10 µg/mlのDNase Iを加えて1分間静置する。
- ④ CELLNETTAを親水化処理する。*
- ⑤ メッシュサイズ10 µmのCELLNETTAに通す（図2操作①）。
- ⑥ 通過液をメッシュサイズ6 µmのCELLNETTAに通してシングル細胞懸濁液を回収する（図2操作②）。

※詳細は、CELLNETTAのユーザーガイド「親水化マニュアル」をご覧ください。

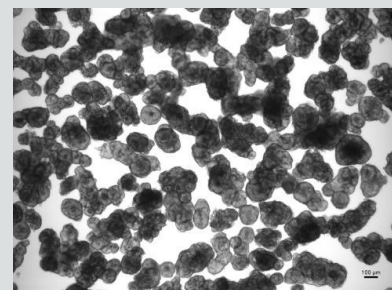
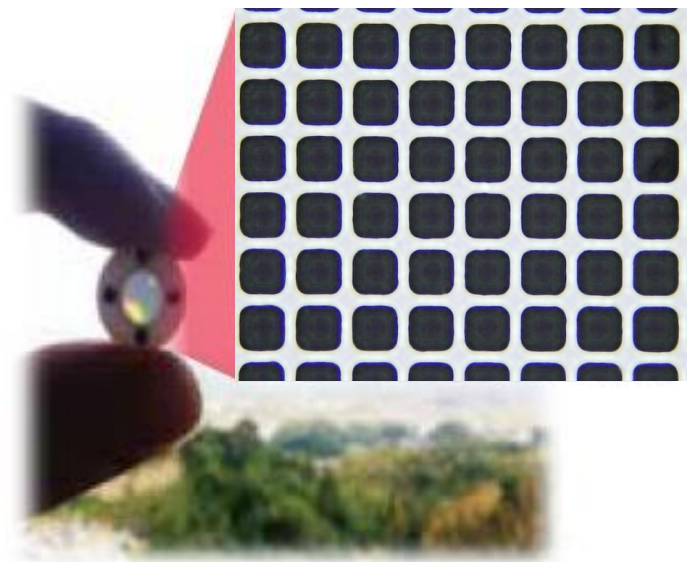


図1: KUC6細胞塊懸濁液の顕微鏡写真。直径40 µm以上の細胞塊が見られます。スケールバーは100 µm。

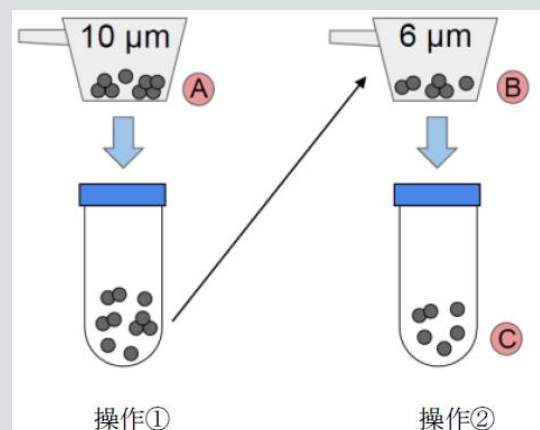


図2: シングル細胞の精製操作図。操作①で大きな凝集細胞を除去し、操作②でシングル細胞懸濁液を回収します。

結果

図2の各Fraction (A~C) における顕微鏡写真 (図3) から、通常行われているTrypsin添加後のピペッティング操作だけでは、かなりの凝集細胞が残っており、CELLNETTAを用いた操作が進むに従って、凝集細胞は少なくなり、シングル細胞が多くなっていくことが分かります。

図4は、各Fractionの構成を明らかにするため、顕微鏡画像をImageJで解析した結果です。各色棒グラフは、凝集細胞を構成する細胞数を示しています。縦軸は、各Fractionに含れ

る凝集細胞の総数に対する比率を示しています。図4より、CELLNETTAを使った操作によって、Fraction Cで純度96%以上のシングル細胞懸濁液が回収できていることが確認できました。

今回の結果から、CELLNETTAによる操作で、シングル細胞と凝集細胞を高精度で分画できることが分かりました。

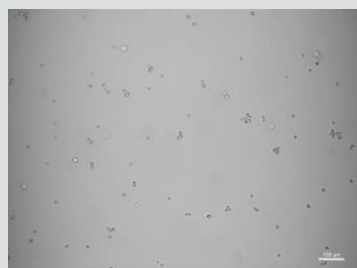


図3 : Fraction A

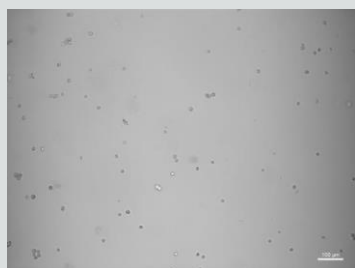


図3 : Fraction B

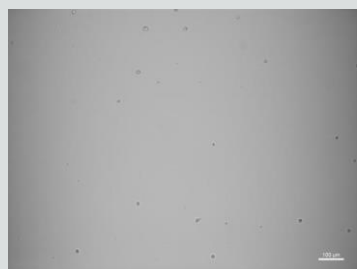


図3 : Fraction C

図3: 各操作 (図2) における細胞懸濁液の顕微鏡写真。スケールバーは全て100 μm。AからCへ操作が進むに従って、凝集細胞の減少が確認できます。

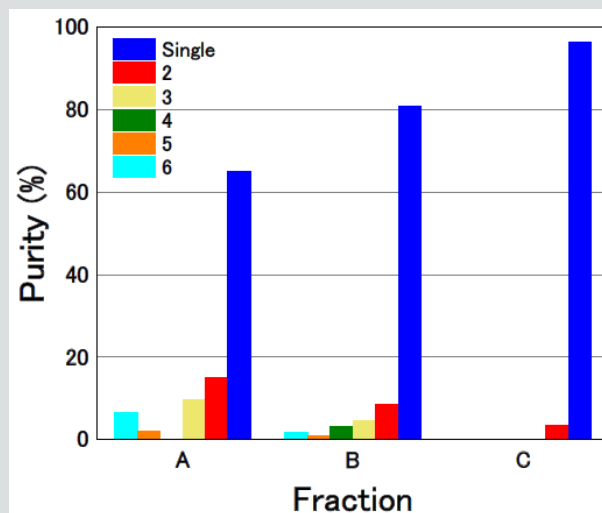


図4: 各Fraction に含まれる細胞の構成比率。凝集細胞を構成する細胞数は画像解析によって求めています。Fraction Cは、96%以上がシングル細胞で構成されていることが確認できます。

本アプリケーションノート使用品

メッシュサイズ	ガンマ線照射	品番
6 μm (特注品)	有	お問い合わせください。
	無	お問い合わせください。
10 μm	有	MZM1B010B50G
	無	MZM1B010B50N

注意事項

- 本製品は医療機器ではありません。
- 当製品はサンプルです。
- 当サンプルを実装した完成品を、直接市場に出さないで下さい。
- やむを得ず市場に出す場合は、当社としていかなる責任も持てません。

