

介绍

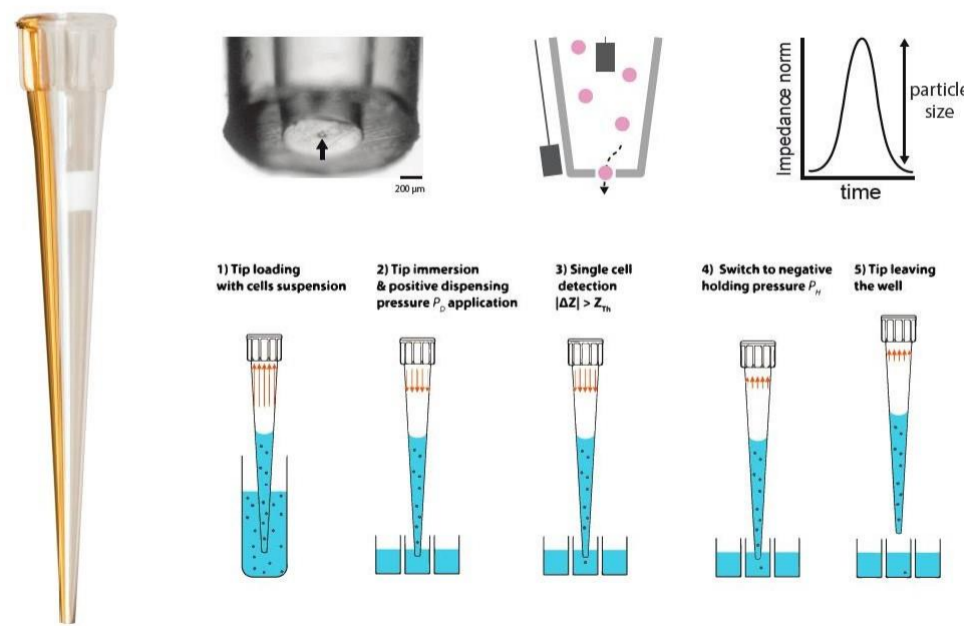
单细胞分离是生命科学许多应用中的关键步骤。然而，当感兴趣的细胞从稀缺的组织样本中分离出来时，这是一个瓶颈。在现有的使用基于细胞分选仪的分离过程时，通常需要大量稀有细胞。此外，在克隆排序过程中，通常不可能同时对不同的亚群进行排序。唯一的解决方案是通过两个连续的排序，这可能会导致显著的细胞损失。此外，液滴细胞分选无法确定孔中是否包含细胞。比色法可用于验证孔是否已接收到单个分选液滴，但这并不能保证细胞实际上存在于孔的底部。在这里，我们测试了来自 Seed Biosciences 的名为 DispenCell 的可溯源单细胞分离新解决方案。这种新的解决方案包括用于自动单细胞可追溯分配的基于阻抗的移液机器人、避免污染的一次性吸头和用于后处理单细胞数据和 QC 的软件 (LIMS)。



图1: DISPENCCELL单细胞分配系统

基于阻抗的吸头(Tip)原理介绍

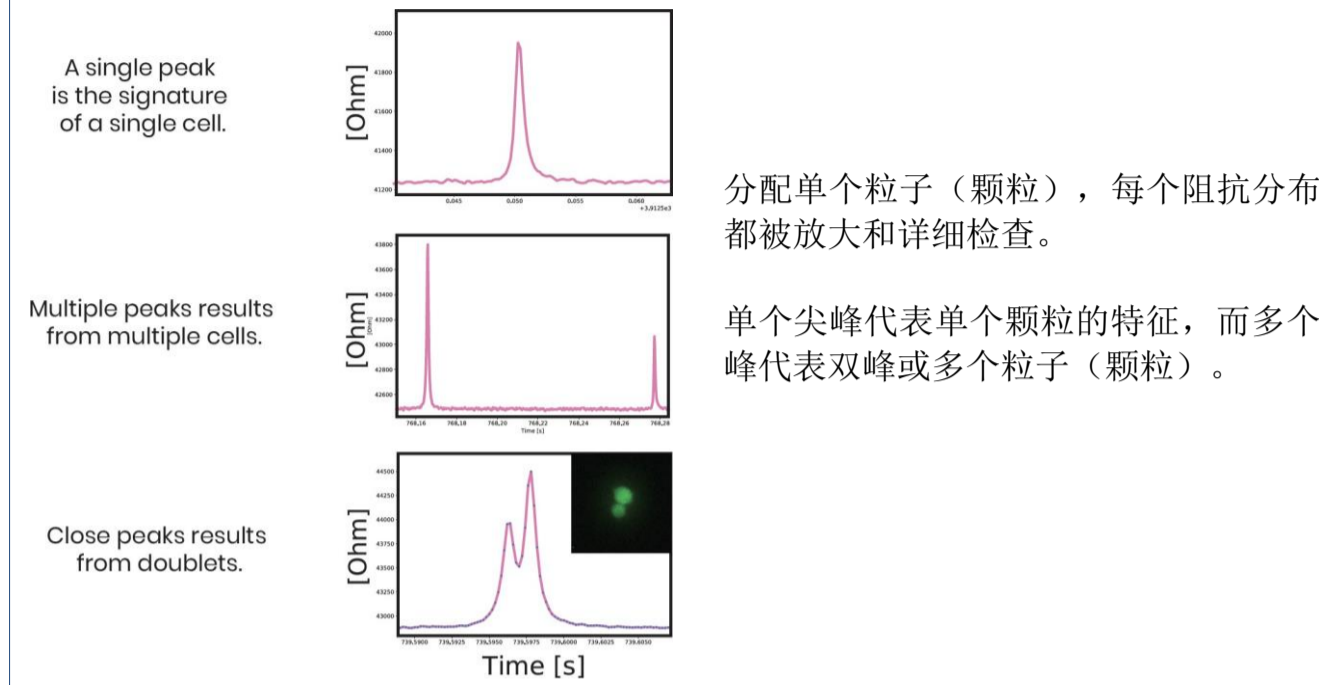
该机器人拥有一个连接到计算机和微型泵的阻抗分析仪，以及一个用作库尔特计数器的无菌一次性传感吸头(Tip)。传感吸头具有外部和内部电极。其中心有一个 30 μm 直径的孔密封尖端的下端。



总而言之，该设备可以感应和记录流过吸头尖端孔的每一个粒子或细胞。一旦颗粒通过尖端，就会发送反馈，以停止分配并移动到下一个孔做准备。

系统性能验证

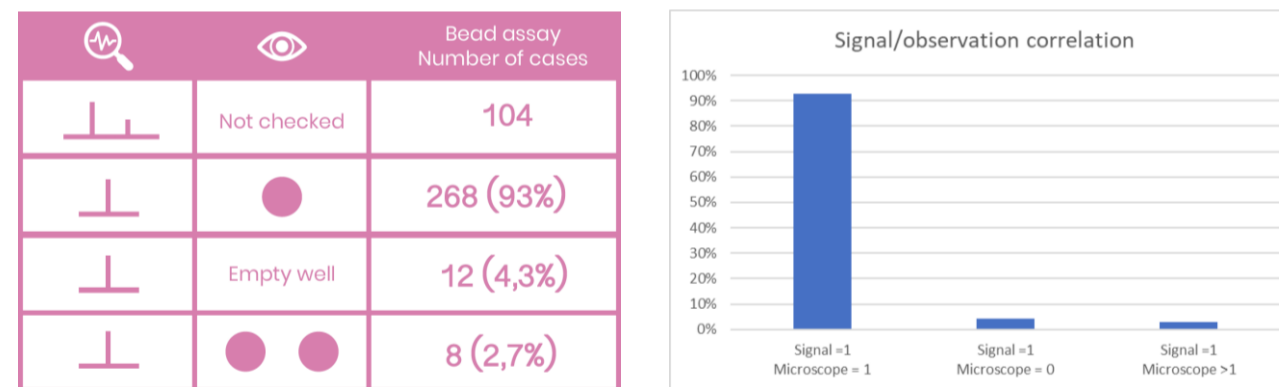
在第一次分析中，我们使用FACS ARIA™ FUSION将500个微球（10 μm，绿色荧光聚苯乙烯微球）分选到装有30 μl上样溶液的Eppendorf管中。然后，我们测试了DispenCell在384孔板中分配单个微球的能力。



分配单个粒子（颗粒），每个阻抗分布都被放大和详细检查。

单个尖峰代表单个颗粒的特征，而多个峰代表双峰或多个粒子（颗粒）。

分配后，将板在 3500 rpm 下离心 5 分钟，然后在显微镜下检查每个阳性孔中是否存在荧光球。我们比较了成像仪和 DispenCell 软件的结果。



板填充率为75%（288/384孔）。DispenCell 拒绝了104个孔，因为它们包含一个以上的细胞，这些孔还没有通过显微镜检查最终确认。从包含单个细胞的288个孔中来看：93%的孔中分配有 1 个细胞，约4%的孔是空的，约3%的孔中分配了 2 个细胞。

一般工作流程

在第二次检测中，我们重复四次将 500个CHO-GFP+细胞分选到四个不同的Eppendorf管中，管中含有30μl上样缓冲液。然后，我们测试了DispenCell在四个96孔板中分配单个CHO-GFP+预分选细胞的能力。

对于每块板，DispenCell软件都清晰地显示了哪些是单克隆孔（1个单细胞；绿色）或必须舍弃（0个细胞或多个细胞；红色）的孔

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
B	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
C	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
D	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
E	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
F	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
G	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
H	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●

Legends
 ● Single cell ● Discarded well ● No experiment file

图3: DispenCell 软件界面UI。

96孔板	板单细胞填充率%
1	77
2	73
3	76
4	71

74.5%的孔只含有一个细胞。然而，使用的参数与微球使用的参数，并且应针对每种细胞系微调这些参数以增加或者提高单细胞填充率。

此外，用DispenCell分离的所有单克隆在培养几天后都显示出高细胞密度和活力。

结论

这些实验表明，基于阻抗的分配DispenCell能够以最小的细胞损失对来自不同类型样品的单个细胞进行分配。DispenCell与细胞分选或细胞富集技术相结合以发现感兴趣的未知的稀有细胞亚群，为单细胞分配提供了完整的工作流程。

DispenCell软件提供了可支持其他下游应用的单细胞分离的即时、可靠、可见和可追溯的证明。

致谢

我们感谢 J.Pontis (Prof Trono Lab) 提供这些实验中使用的细胞。我们也感谢 SEED Biosciences SA 的所有团队提供的所有支持。

DB 和 PR 在将 DispenCell 商业化的公司 SEED Biosciences SA 中拥有经济利益。

下一代单细胞分配器DISPENCCELL

与我们立即连接，快人半步，畅享单细胞分配高效率



DispenCell

请扫码阅读单细胞分配器产品详情

产品经理热线
 sales@coreab.cn
 www.coreab.cn
 010-5846-9180
 153-1333-5191

北京市海淀区上地三街中黎科技园1号楼A段0059, 100085

© 沐之东生物技术有限公司 | Seed Biosciences note application公开发布，可不受限制的与他人共享

参考文献

1一种快速验证细胞分选仪单细胞沉积设置的方法。
 Rodrigues OR, Monard S. Cytometry A. 2016年6月; 89(6):594-600