

細胞内への薬剤や核酸の導入

Don't Transfect, Just Deliver!

メカノポレーションという細胞への新しい導入手法



- ▶ 導入時のダメージが低く、細胞機能をそのまま維持
- ▶ 非電荷物質や膜透過性のない物質も細胞内へ導入可能

多種多様な導入物質

- | | | |
|------------------|---------------------------|---------|
| mRNA、siRNA、saRNA | DNA Encoded Library (DEL) | ウイルス |
| タンパク、ペプチド | カーボンナノチューブ | ラベリング分子 |
| ポリマー | 金ナノ粒子 | 量子ドット |
| 低分子 | 抗体 | |

多種多様な細胞種

- | | |
|--------------|--------------|
| PBMC細胞 | T細胞 |
| B細胞 | 単球細胞 |
| NK細胞 | 造血幹細胞 (HSCs) |
| iPS細胞 | HeLa細胞 |
| 赤血球細胞 (RBCs) | HEK細胞 |

Gateway™ メカノポレーター

独自のメカノポレーションシステムの実現で、細胞機能を維持したまま、様々な分子や薬剤を高効率にラボスケールで導入します。



Portal Biotechnologies社の メカノポレーションデリバリーシステム

- 細胞へ電気を流さず、細胞ダメージが少ない
- 非電荷物質を細胞へ導入することも可能



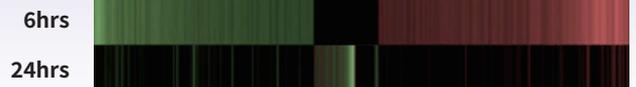
特別に設計されたシリコンメンブレン上の微細孔に細胞を通過させることで、細胞膜に一過的な変化を生じさせ、細胞内へ物質を運びます。
今まで細胞内へ導入をすることができなかった物質でも、導入が可能になりました。

細胞機能の維持



エレクトロポレーションの場合：
遺伝子発現の調節異常を起こす場合がある。

T細胞：調節異常を示す遺伝子(2倍以上の変化、 $p < 0.05$)



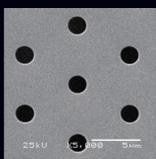
メカノポレーションの場合：
コントロールの細胞と近い細胞機能の維持が可能。

T細胞：調節異常を示す遺伝子(2倍以上の変化、 $p < 0.05$)



DiTommaso, T et al. 2018. PNAS. PMID: 30381459.

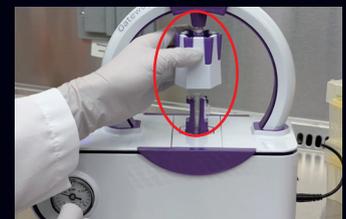
消耗品 マイクロブースター (MicroBooster)



マイクロブースターは、内部に微細孔を有するメンブレンを備えた細胞容器です。細胞および導入物質を含む溶液を50~200 μL 注入し、Gateway本体にセットした後、空気圧により溶液をメンブレンへ通過させます。

微細孔のサイズは4~15 μm から選択可能※
サンプル容量や細胞濃度に応じて、複数回の再利用が可能

※4 μm ・5 μm ・5.5 μm ・6 μm ・6.5 μm ・7 μm ・7.5 μm ・8 μm ・9 μm ・10 μm ・11 μm ・12 μm ・13 μm ・14 μm ・15 μm



Gateway™ 仕様

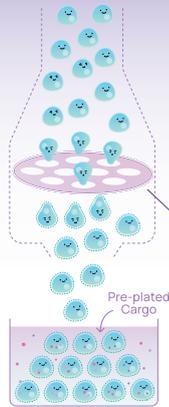
| | |
|--------|---|
| 容量範囲 | 50~200 μL (推奨100 μL) |
| 細胞数 | 推奨 $0.5 \sim 5 \times 10^7$ cells/mL |
| サイズ・重さ | W 28.5cm × D 16.5cm × H 26.0cm ・ 3.2kg |
| 圧力設定 | 3~15psi |

Galaxy™

HeLa細胞へのオリゴのハイスループット導入

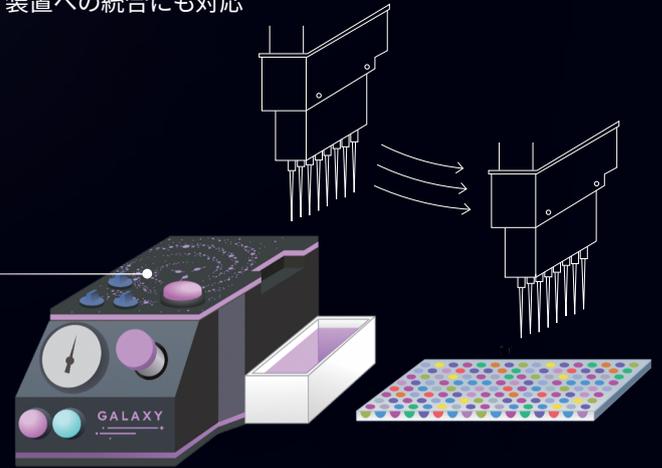
細胞が微細孔を通過する際に細胞膜に透過性が生じ、約30秒ほど維持されます。その間に、細胞を予めカーゴ（導入物質）が入ったウェルに直接分注することで、細胞内へ物質を取り込みます。

マルチウェルプレートのウェルごとに異なる導入物質を試すことができるので、スクリーニングに最適です。



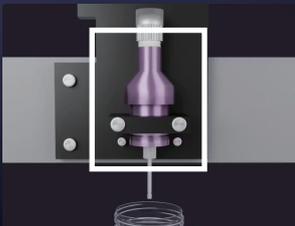
マルチウェルプレートへのメカノポレーション

- 細胞膜非透過性の物質の導入も可能
- DNA-Encoded Library (DEL)、低分子、ペプチド、多様な分子プローブに対応
- マニュアルでのピペッティング操作だけでなく、既存の自動分注装置への統合にも対応

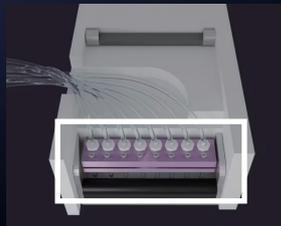


Galaxy™-i

シングルディスペンサー



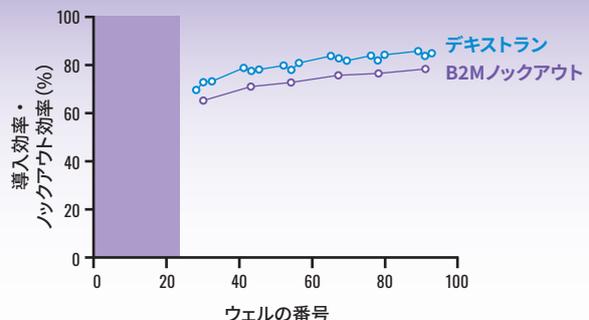
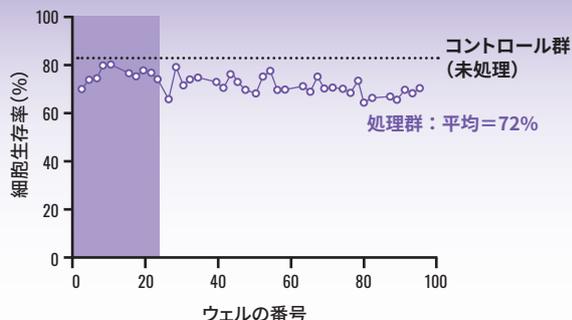
8連ディスペンサー



ユーザーの自動分注装置を利用したマルチウェルプレートへのメカノポレーション

- シングルまたは8連ディスペンサー（画像左の白枠内）を、既存の自動分注システムに統合して使用
- 小規模研究から大規模スクリーニングまで幅広く対応
- Galaxy™と同じメカノポレーションのしくみを採用。さらに、細胞を各ウェルへ分注する直前に処理を行うことで、より高い導入効率を実現

プライマリー T細胞のハイスループットなゲノム編集

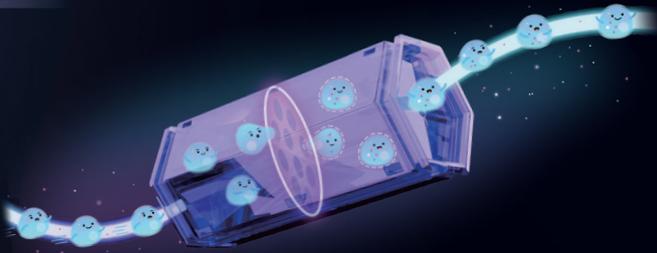


- 96ウェルプレートにB2M RNPとデキストランをあらかじめ分注 → 未刺激ヒトT細胞をGalaxy-i™ (Fritz Gyger社の自動分注機：Certus Flexに統合) でメカノポレーションしてから、細胞を各ウェルに自動分注し、ウェル内でB2M RNPとデキストランを細胞内へ導入
- 導入から3日後にノックアウト効率を評価した結果、高効率なノックアウトを確認

MilliBooster™

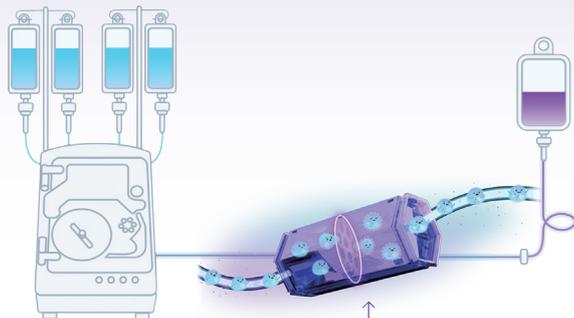
1分で10⁹個以上の細胞に導入!

既存のGMP対応自動細胞処理システムに統合



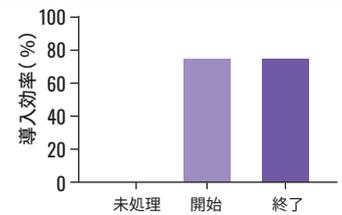
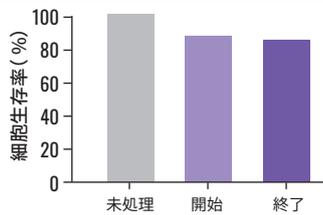
MilliBooster™によるPBMCへの大量導入

CTS Rotea
(Thermo Fisher Scientific社)

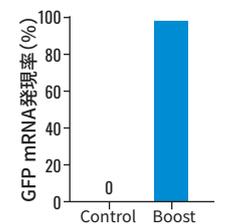
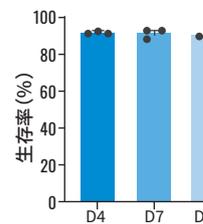
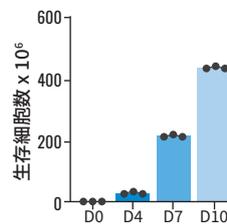
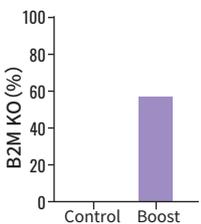
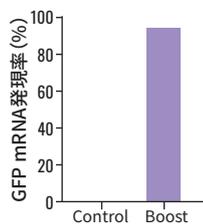
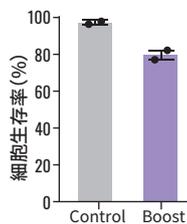
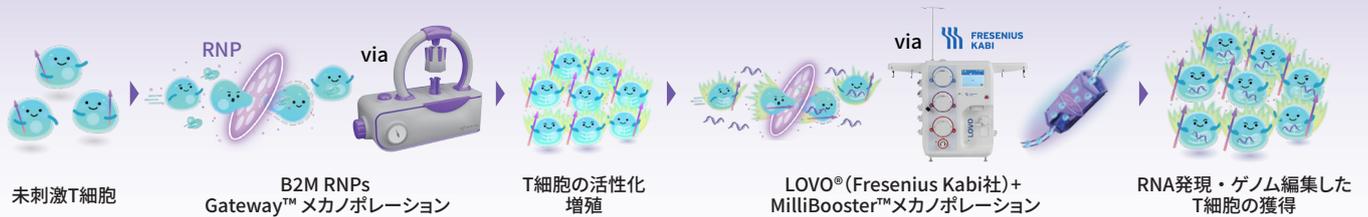


POWERED BY  PORTAL

- 自動細胞処理システム CTS Rotea (Thermo Fisher Scientific社) に MilliBooster™ を統合
- 蛍光標識デキストランを約 1.0×10^9 個のヒト末梢血単核細胞 (PBMC) に1分間でメカノポレーション
- 開始時および終了時のサンプルをフローサイトメトリー解析し、細胞生存率・導入効率を評価



Gateway™とMilliBooster™による臨床スケールでのヒトT細胞への導入



● 商品の仕様および外観は予告なく変更される場合がありますのでご了承下さい。 ● 商品の詳細は当社ウェブサイトをご参照下さい。



ネッパジーン株式会社

〒272-0114 千葉県市川市塩焼 3-1-6
TEL : 047-306-7222 FAX : 047-306-7333
E-mail : info@nepagene.jp
URL : https://nepagene.jp