

# 人類iPSC在維持表型下 的高效率單細胞 接種克隆方法

## 介紹

在藥物發現、合成生物學和細胞治療工作領域中，愈來愈多使用人類誘導型多能幹細胞 (Human induced pluripotent stem cells, hiPSC) 的相關案例。然而，無法將 hiPSC 作為單細胞進行穩健操作仍然是一個重大的生物學和技術障礙。目前的技術依賴低效方法，例如限制性稀釋 (Limiting Dilution, LD)、集落挑取 (Colony picking) 和螢光激活細胞分選 (Fluorescence-activated cell sorting, FACS)，這些方法耗時、昂貴且與 hiPSC 的敏感性不相容。此外，這些方法提供的克隆性證據 (Evidence of clonality) 並不足夠。



圖1. VIPS™ 高效能單細胞接種儀

Solentim (Advanced Instruments) 先前已確立了 VIPSTM 單細胞接種平台 (見圖1) 相對於手動 LD 方式創建主細胞庫 (Master Cell Banks, MCBs) 的優勢，且隨著 MatriClone™ 幹細胞專用補充劑的出現，VIPSTM 現在能夠進行高效能幹細胞接種，同時保持高存活率。

本篇應用描述如何使用 VIPSTM 平台結合優化的培養條件，以穩健且自動化的方式成功克隆幾種不同的 hiPSC 細胞株。這種方法已被證明可以縮減時間和成本，同時最重要的是保持細胞表型 (Cell phenotype) 和基因組完整性 (Genomic integrity)，以及提供細胞株克隆性的書面證據。

## 結果

活細胞集落的生長增加

與手動 LD (圖3) 相比，VIPSTM 能夠表現出更高的播種效率 (圖20)，每盤細胞克隆衍生的集落數量顯著增加。

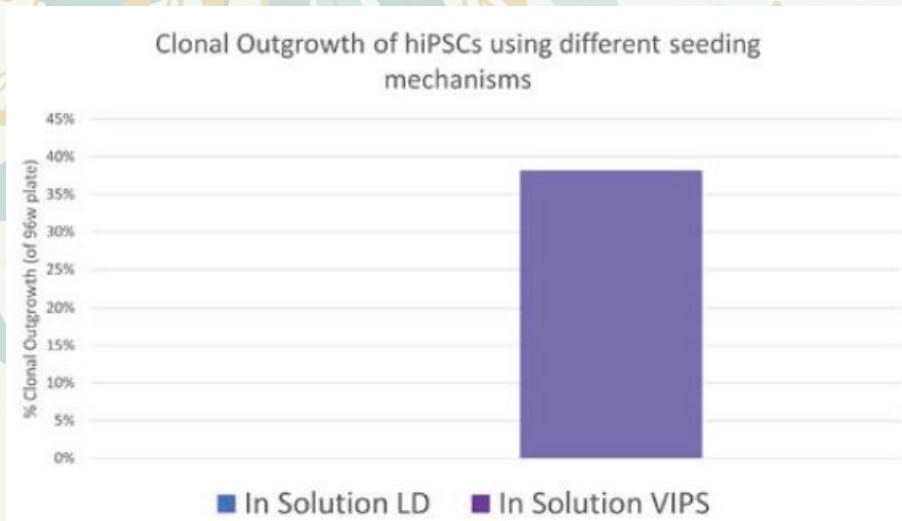


圖2.標準 LD 克隆與 VIPS™ 克隆的每塊孔盤之 hiPSC 克隆集落生長結果，培養基皆添加 MatriClone™。

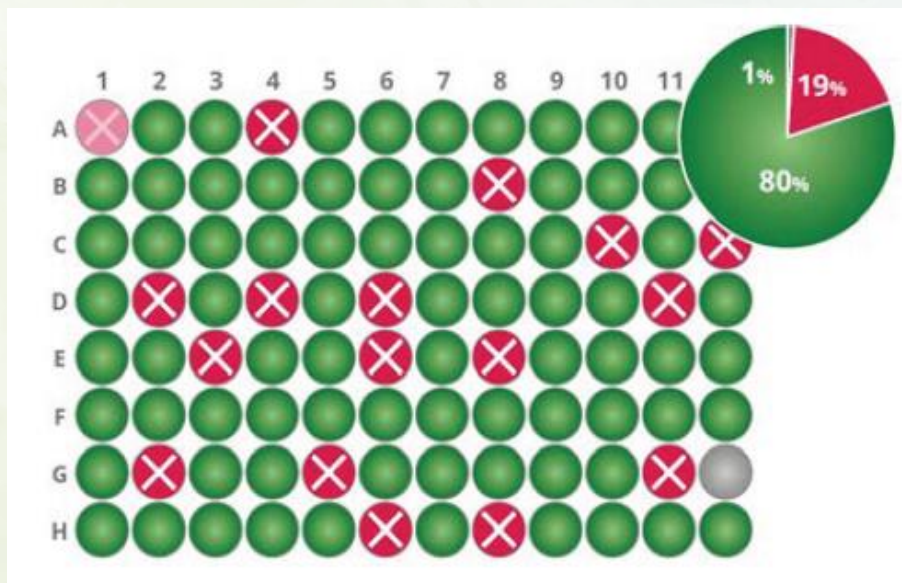


圖3. 使用 MatriClone™ 培養基並以 VIPS™ 進行單細胞接種之 hiPSC 結果示意圖 (綠色孔代表單細胞分離的成功確認)。

## 表型、遺傳穩定性和分化能力的維持

透過亞克隆實驗，我們能夠證明以下各項：

- VIPS™ 接種生長的細胞克隆集落的在第10天仍維持多能性 (圖4)
- 透過核型分析確認細胞維持遺傳穩定性 (圖5)
- 擴增克隆中持續具有多能性 (圖6)
- 保留分化能力，展現功能效力 (圖7)

## 結論

綜合以上數據，本篇描述了使用 VIPS™ 和 MatriClone™ 平台技術組合進行 hiPSC 單細胞克隆其簡單並強大的工作流程。VIPS™ 具有獨特的能力，能夠執行高效單細胞接種 (到乾燥、無塗層孔盤中)、液滴內細胞檢測和全孔成像的雙重功能，以提供克隆性保證的「雙鎖」。與傳統的勞動密集單細胞克隆方法 (如LD) 相比，這種組合具有顯著優勢，每孔盤可確認到的克隆細胞數量更高，另也可以在 VIPS™ 上進行每日全孔成像，以記錄細胞集落生長情況。此外，VIPS™ 也會產生克隆性報告，描述克隆從液滴中的單顆細胞到完全形成的集落歷史。該報告可用作客戶正在開發細胞療法的 IND 監管申請的一部分。

[想了解完整實驗方法與數據？請點擊觀看完整文章內容](#)

文章來源：[High Efficiency Single Cell Cloning of hiPSCs While Ensuring Maintenance of Phenotype \(Advanced Instruments\)](#)