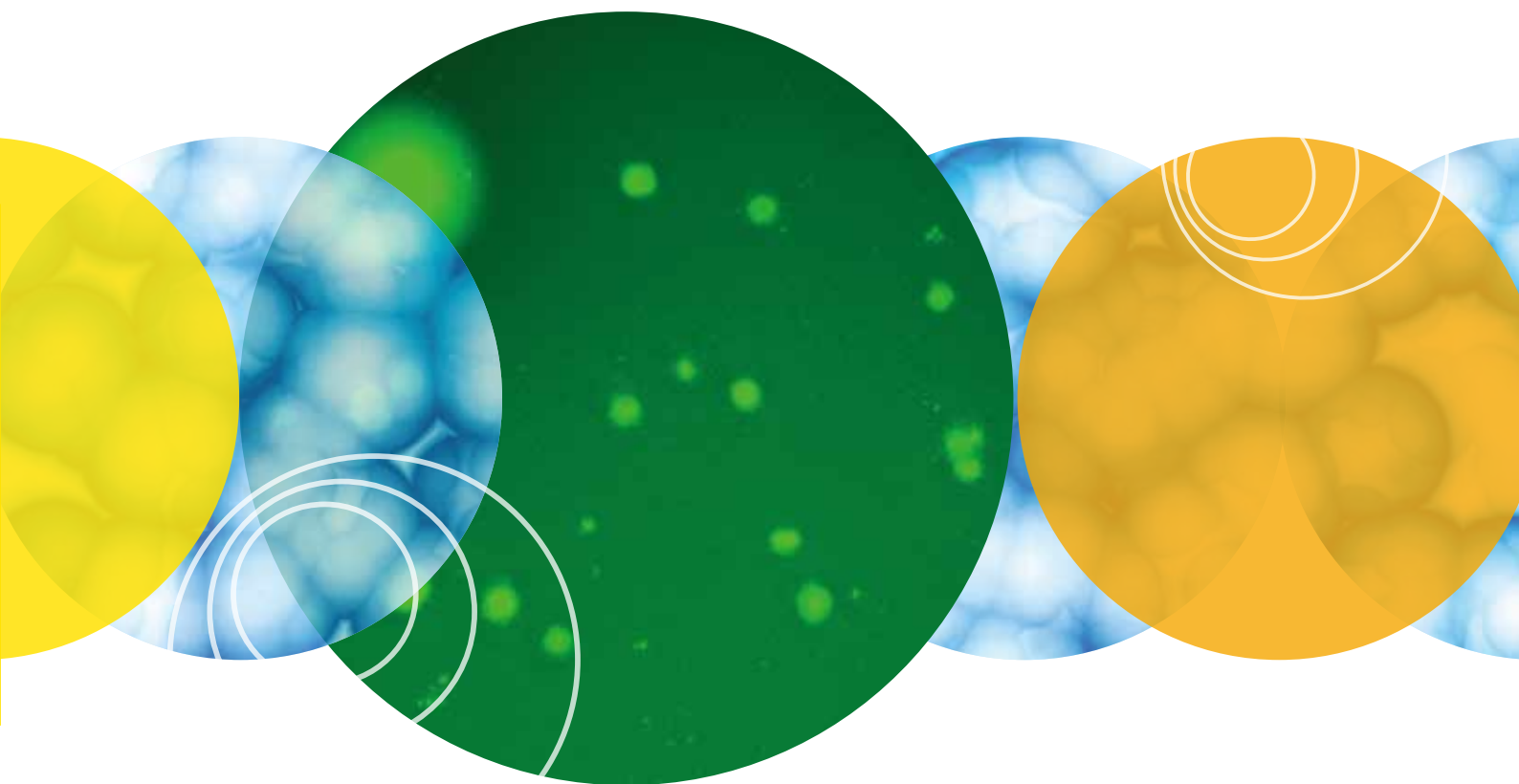


ClonePix™ 2



更少时间，筛选挑取更多
细胞克隆



主要特性：

- 更短时间筛选更多克隆
- 精确、自动化克隆挑选，避免有限稀释的错误
- 优质图像结合智能化分析软件
- 增加生物治疗药物细胞系开发的产量

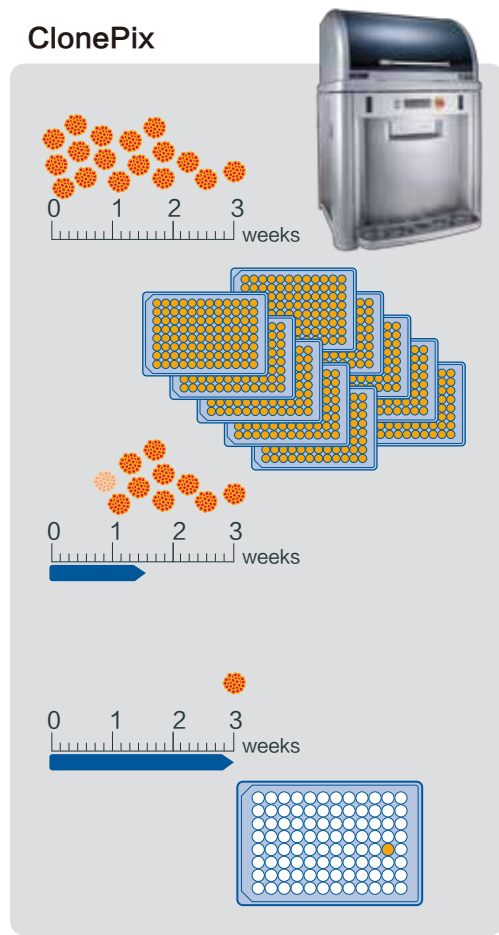


更少时间筛选更多克隆

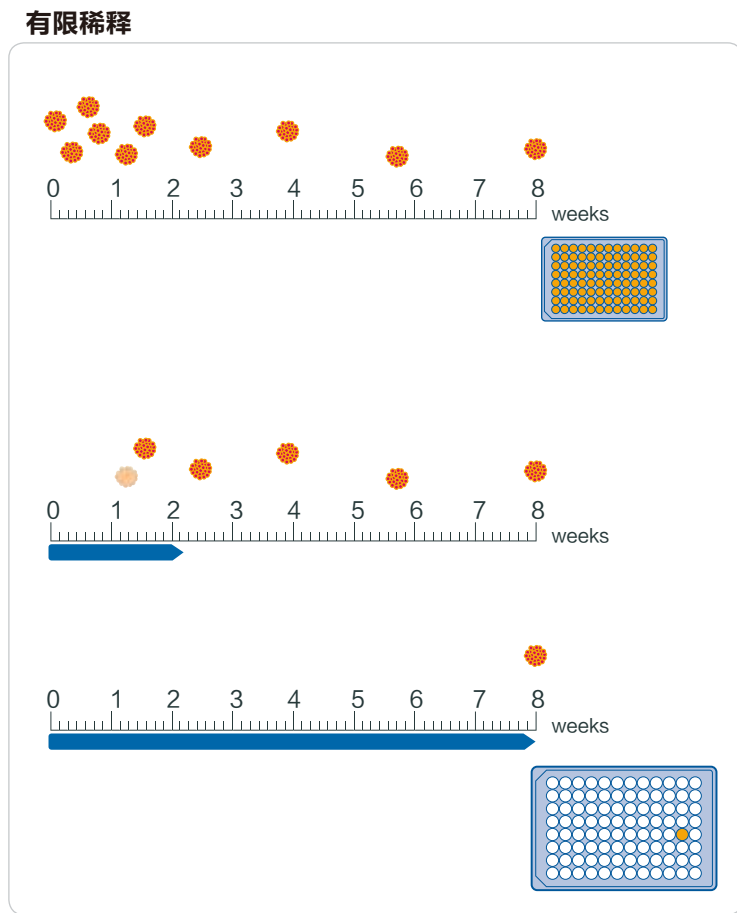
缩短细胞系和抗体开发时间

经过已有用户证明，ClonePix系统可以显著提高工作效率和投入产出比。比如，单克隆抗体的筛选时间可以缩短50%。

避免有限稀释



...3周筛选10 000个克隆



...8周筛选1 000个克隆

挑取表达水平最优的细胞克隆

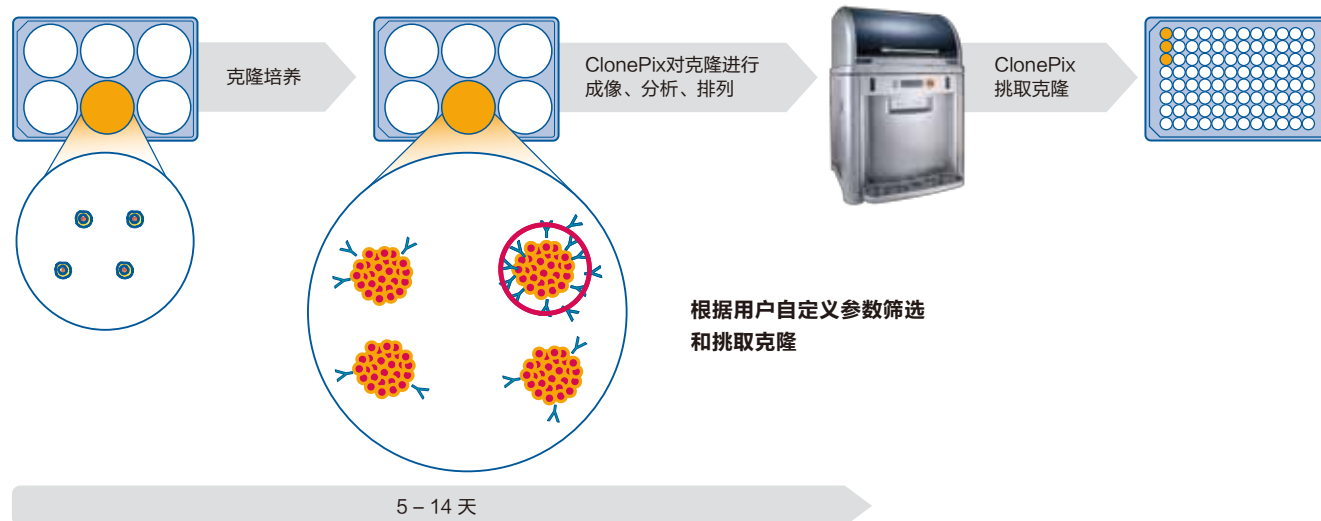
- 使用半固体培养基培养细胞，获得独立的单个细胞克隆
- ClonePix系统可以快速筛选上万个克隆
 - 大大增加找到最优克隆的概率
 - 白光成像用于识别克隆位置
 - 荧光成像用于定量表达水平
- 多种检测方法可选
 - 不用标记，直接检测杂交瘤分泌的IgG或抗原特异性MAbs
 - 检测加入标记的重组蛋白或表达的荧光标记蛋白
- 客观的成像分析，使用户可以准确筛选到最优表达水平的克隆，并尽可能早的排除表达水平低的干扰克隆
- 准确、自动化的挑取克隆，避免出现类似有限稀释的错误

满足药品监管的要求

针对人IgG的项目，使用不含动物源成份的试剂：CloneMedia, CloneMatrix, Recombinant CloneDetect以及XP media。

准确并且可靠筛选和挑取最优克隆

铺细胞到半固体培养基



克隆形成

易于挑取独立的克隆 — 确保形成独立的单个克隆

- 使用半固体培养基培养细胞
- 适用于多种细胞，经过优化和验证的专用培养基可选：Per.C6[®]，CHO-s，CHO DG44，HEK，CHOK1SV，杂交瘤以及骨髓瘤细胞等
- 有标准成份，无动物源成份以及无谷氨酰胺成份等多种培养基可选
- 使用CloneMatrix甲基纤维素浓缩液，用户自己配制特殊用途培养基

CloneMedia培养基获得的克隆，使用CloneSelect Imager成像

不同于传统的培养方法，半固体培养基的细胞铺板密度更高，并且可以保证形成独立的单个克隆，有利于下一步单克隆的挑取。



使用CloneMedia-CHO培养基无血清悬浮培养8天后，CHO细胞克隆成像图片



使用CloneMedia Hybridomas/Myeloma培养基培养8天后，杂交瘤克隆成像图片

一个成熟的培养方法

使用半固体培养基培养细胞形成克隆，这种方法已经非常完善：

“EASIER TO PLATE OUT LARGE NUMBERS OF CELLS AND TO RECOVER MANY INDEPENDENT HYBRIDOMA CLONES”

A simple, single-step technique for selecting and cloning hybridomas for the production of monoclonal antibodies (J. Immun. Methods (1982) 50, 161-171)



目标蛋白检测

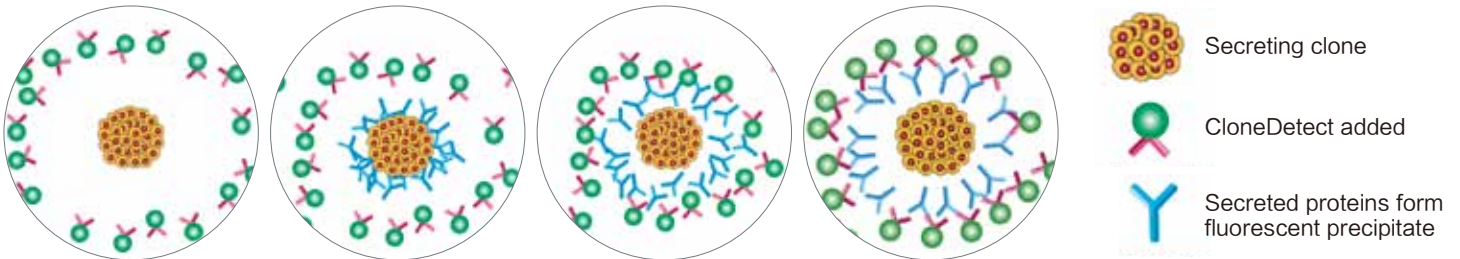
使用基于荧光的方法检测分泌蛋白

荧光耦联的CloneDetect检测试剂可以原位检测分泌表达的人、小鼠以及大鼠抗体。因为克隆本身不需要产生荧光，所以不需要对目标蛋白加入额外荧光标记分子。

- 根据实验检测要求以及表达蛋白类型，选择合适的检测试剂，比如FITC标记抗人检测试剂
- 加入液体检测试剂到半固体培养基
- ClonePix系统对克隆进行成像、分析并根据所有克隆的荧光信号水平进行排序

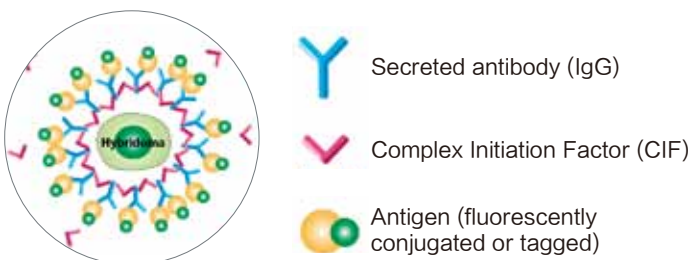
检测方法的选择

检测分泌IgG的单克隆抗体



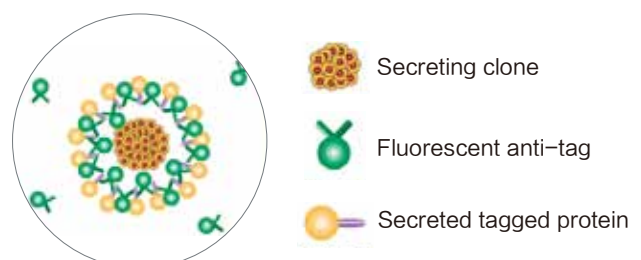
使用荧光标记的CloneDetect原位检测人源抗体

检测抗原特异性单克隆抗体杂交瘤



使用荧光耦联的抗原以及复合体起始因子(CIF)产生荧光复合体。

检测加入标签分子的重组蛋白

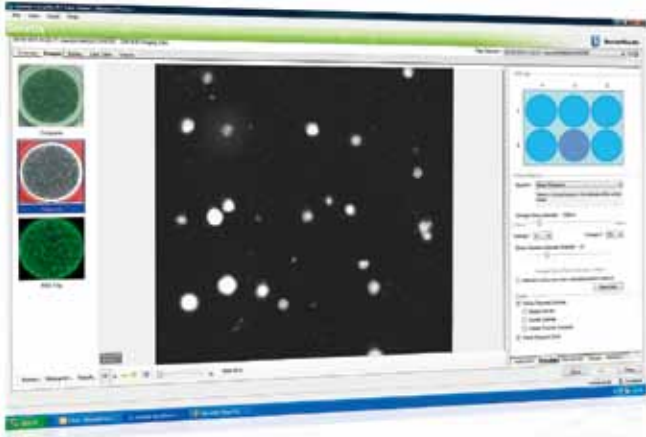


构建的蛋白分子包含了标签序列，比如His，FLAG™或者Fc，可以使用标签特异性的检测试剂检测。

高质量成像，智能化分析

成像

- 白光和荧光成像可以用于计算克隆的大小以及荧光强度(代表目标蛋白的表达量)。



白光成像识别克隆，计算克隆的大小等参数。



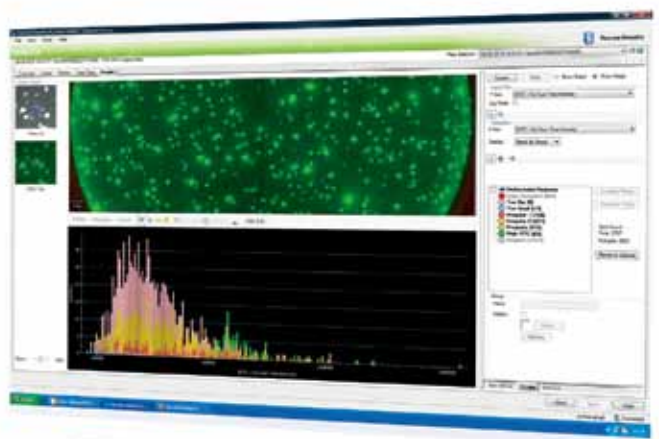
荧光成像计算克隆荧光强度，筛选找到最优克隆。

数据显示

- 软件根据克隆的荧光强度、大小等物理参数对克隆自动进行排序，得到所有克隆的2D柱状图表。
- 克隆的筛选和选取主要依据以下参数：
 - 大小，边缘圆度以及克隆距离
 - 根据荧光强度排序
 - 用户可以通过软件中设置“proximity”的值，去掉距离太近的克隆



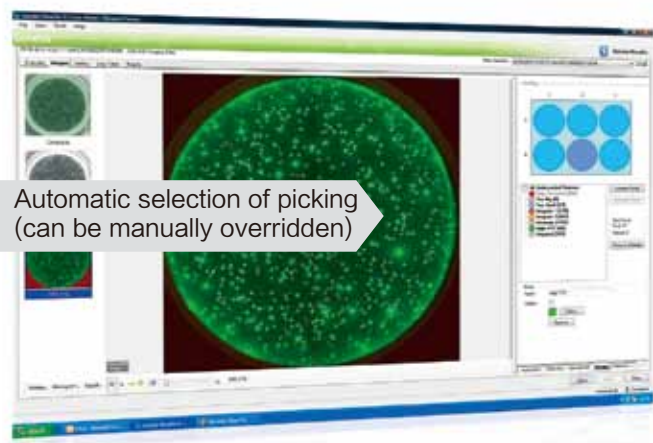
克隆排序图



用户自定义筛选参数 — 软件自动选取最优克隆

数据追踪

- 软件自动将所有克隆的统计信息排列成表，可以随时导出想要克隆的信息
- 软件按照用户自定义的顺序挑取克隆到96孔板，并自动记录克隆来源、位置信息以及荧光强度等统计学参数



所有克隆的统计学参数列表



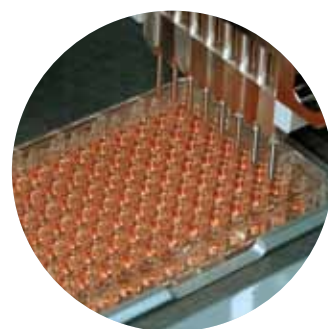
最终克隆挑取结果信息

克隆挑取和转移

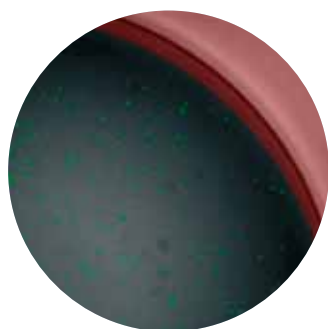
- 用户可以根据成像数据和统计分析的结果自定义最终要挑取的克隆数目和挑取顺序
- 系统自动选择用户自定义的克隆，并将每个克隆转移到96孔目标微孔板，用于培养后进一步分析或克隆扩大培养
- For cell line expansion after picking, XP Media, fully compatible with semi-solid CloneMedia, supports optimal cell growth



准确并温和挑取克隆



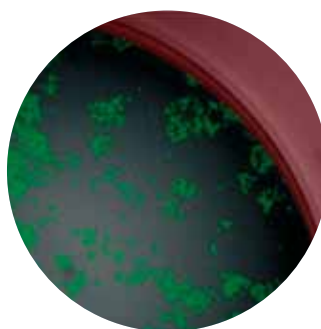
转移挑到的克隆到96孔目标板



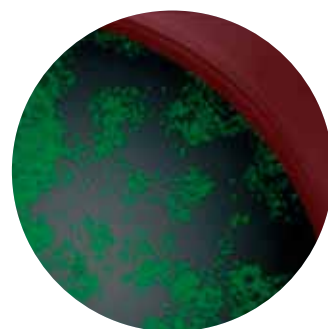
Day 0



Day 2



Day 4



Day 6

克隆挑到96孔板之后，可以使用CloneSelect™ Imager对整块板每个孔的细胞生长情况进行成像跟踪分析(绿色表示的是软件识别到有细胞的区域，用于自动计算细胞汇合度)

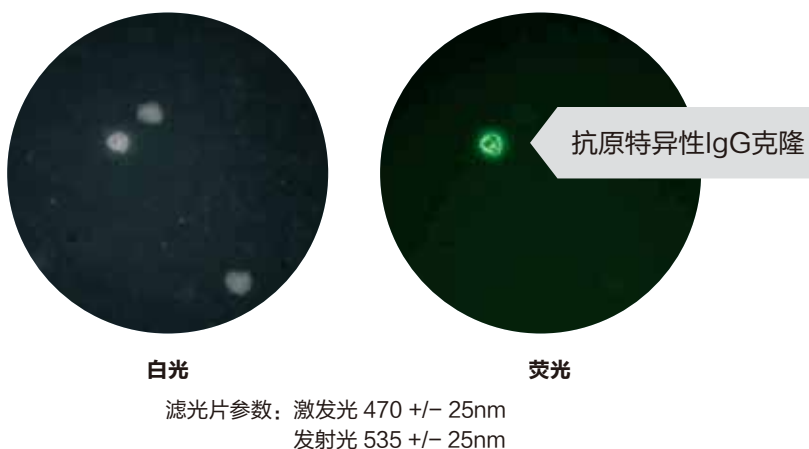
快速筛选特异性抗体克隆

ClonePix系统可以从融合后自动化筛选，一步找到目标杂交瘤克隆；是一个高效的自动化筛选方法。

- 筛选更多克隆——发现更多的阳性克隆
- 实验过程更加快速高效，e.g.7-10天可以筛选到100-500个特异性杂交瘤克隆
- 通过避免阳性克隆的丢失以及早期排除阴性克隆，大大节省下游工作时间和成本
- 原位筛选抗原特异性或者分泌IgG杂交瘤——适用于多种类型抗原分子(从160 KD的复合体蛋白到2.6KD的磷酸肽)

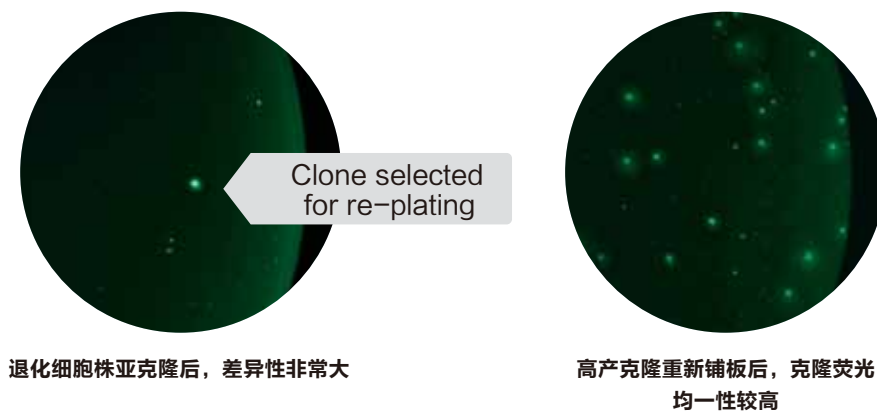
快速检测抗原特异性IgG克隆

FITC标记60KD抗原



快速从退化克隆中筛选高产克隆

一些杂交瘤细胞系在MAb的产量方面退化严重，或者分泌性比较差。已有用户使用ClonePix系统从退化的克隆中成功恢复了高产克隆株。



“WE HAVE INCREASED OUR FUSION PRODUCTIVITY BY APPROXIMATELY 50%, WHILE DECREASING OUR TIME FROM FUSION TO STABLE CLONE BY 50%”

Dr. Robin Barbour, Prothena Corporation

增加生物药物细胞系的产量

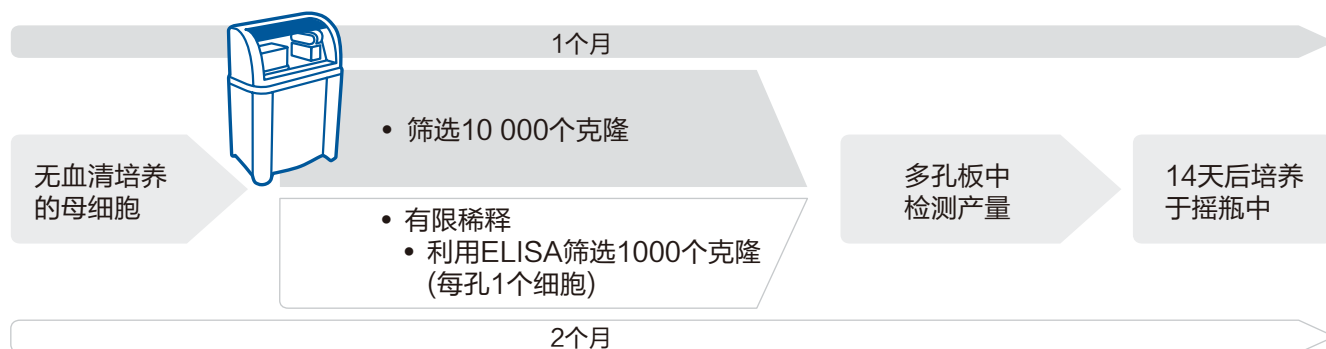
ClonePix系统相比传统方法，可以在短时间内筛选更多的克隆，能够大大增加找到稀少的高产克隆的概率。通过下面的实例(courtesy of MedImmune LLC)，比较了传统的有限稀释和ClonePix系统的有效性。

Conclusion from MedImmune:

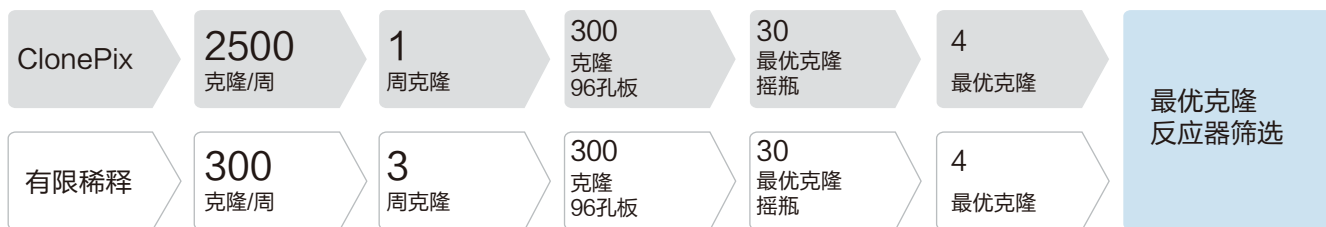
“... A POWERFUL TOOL IN CELL LINE DEVELOPMENT. THIS METHOD MAKES SELECTING THE OPTIMUM PRODUCERS FASTER AND LESS LABOR-INTENSIVE AND SHORTENS CELL LINE DEVELOPMENT TIME.”

Dr. Jianguo Yang, Group Leader in Cell Line Development, MedImmune LLC

更短时间筛选更多克隆



原位荧光显示高产细胞株，早期排除不需要的克隆



在工艺进一步优化前即获得高产克隆(NS / O: 4–5 g / L, CHO: 5–6 g / L)

ClonePix		
Clone	Titer (g/L)	qP (pcd)
Clone 1	4.5	54.6
Clone 2	4.4	44.6
Clone 3	4.3	49.4
Clone 4	4.0	43.8

Limiting dilution		
Clone	Titer (g/L)	qP (pcd)
Clone A	2.9	32.7
Clone B	2.8	21.0
Clone C	2.7	20.9
Clone D	2.6	29.0

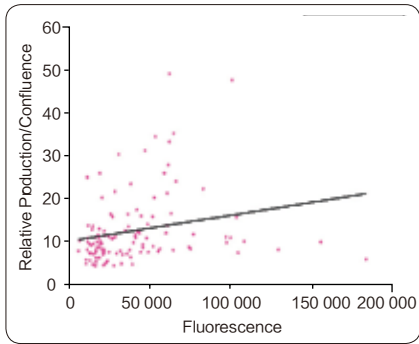
比较ClonePix和有限稀释筛选到的最优NSO克隆。ClonePix筛选到克隆的qP和titer值增加了约2倍，细胞都来自于相同的亲代细胞。

细胞系稳定性

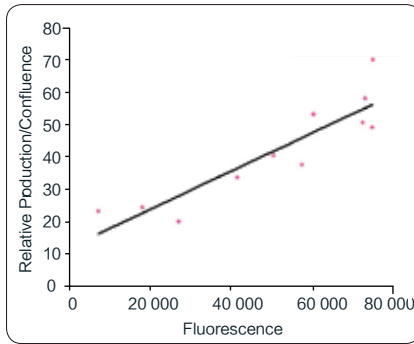
表达量不稳定是细胞系筛选早期阶段的主要问题。ClonePix系统可以直观分析克隆的不稳定性。

把筛选到的克隆铺到半固体培养基，4-7天培养后，使用ClonePix进行成像分析，比较子代克隆和亲代克隆的表达量，验证克隆稳定性。也可以培养7-14天后，重新对亚克隆进行筛选。

经过两轮筛选之后稳定性细胞系数据

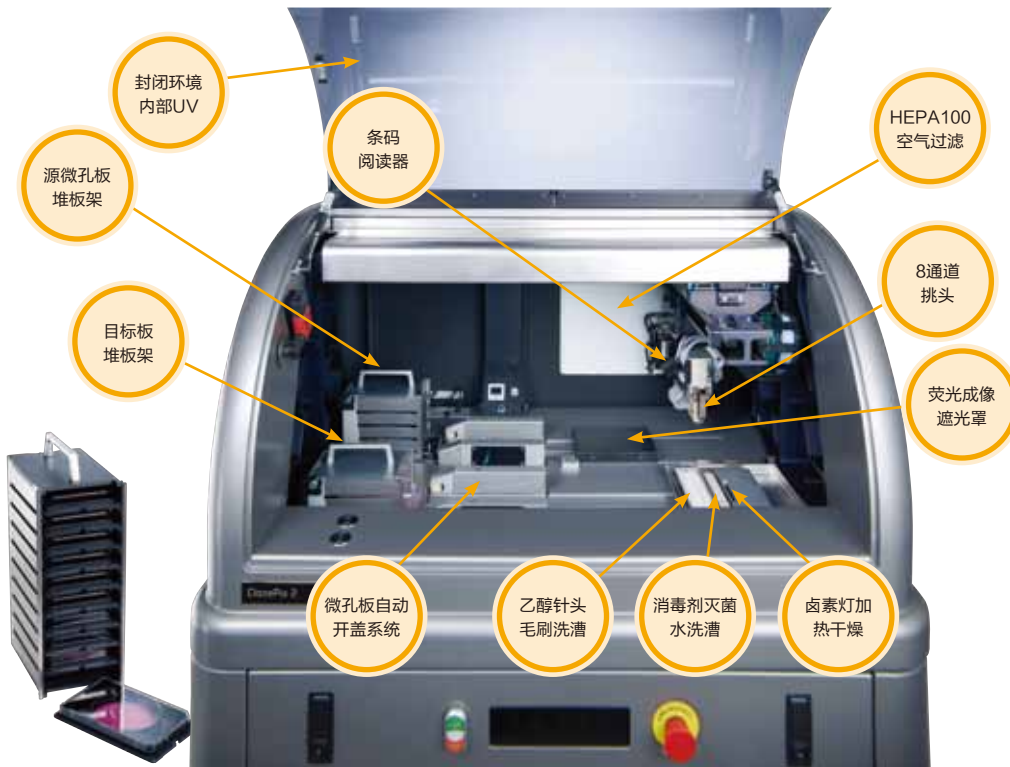


筛选2%最优的转染的CHO细胞用于产量分析。使用CloneSelect Imager分析细胞汇合度。



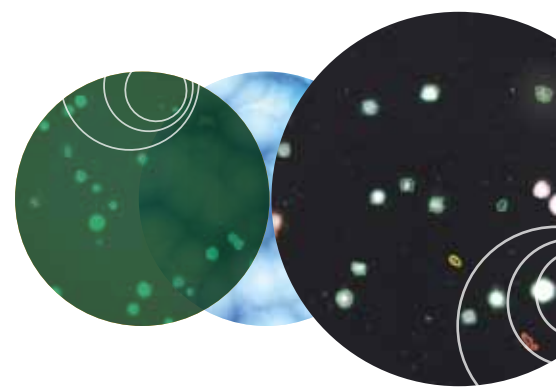
经过两轮筛选后产量和汇合度的比值。使用CloneSelect Imager分析细胞汇合度。

ClonePix2系统结构



系统参数	
成像	ClonePix 2
软件	预装专用成像软件的高性能PC，微软Windows7系统
白光成像	<ul style="list-style-type: none"> 透射光：对低对比度细胞克隆成像，如单层贴壁细胞或悬浮小细胞克隆； 落射光：挑取克隆的时候对克隆成像
荧光成像	共有5对激发/发射光滤光片。根据实验要求，通过软件自动控制（推荐：一次最多可以同时使用三组滤光片，进行多荧光成像分析）
数据追踪	内部有条码阅读器可以追踪每次试验中源微孔板和终微孔板的克隆数据
相机	整合16位冷CCD成像
成像速度	6孔板：5分钟/2个波长滤光片（标准条件）
分辨率	标准：28um; Maximum: 1.5 micron
仪器	
污染控制	完全封闭工作环境，配备HEPA Class100过滤器，仪器内部UV灭菌
源微孔板类型	Petriwell 6孔板、Petri well单孔板、Greiner 6孔板、Nunc 6孔板、Nunc OmniTray
终微孔板类型	GenetixPetri 96孔板、Costar 96孔板、Greiner 96孔板、Nunc 96孔板、Falcon 96孔板
源微孔板载	10块
终微孔板载量	10块
Picking head	8 x picking pins – each pin independently controlled
挑取头	Diameter of picking pins is application specific – F1: suspension cells, F2: adherent cells
挑取速度	>200克隆/小时
针头加热灭菌	专有卤素灯干燥站，用于加热灭菌和干燥
挑针液流系统	精确液流泵和管路系统；5L无菌水和5L废液瓶（可以灭菌重复使用）
Pin drying	Proprietary halogen pin drying station
仪器尺寸	1010 mm (宽) x 900 mm (深) x 1490 mm (高)
仪器重量	350 kg
压缩机	
压缩原件	清洁，无油压缩机，带有亚微米级过滤器，为仪器提供空气动力
尺寸	250 mm (宽) x 600 mm (深) x 750 mm (高)
重量	60 kg
最小运作压力	6 bar
最小操作体积	80 L/min
监管部门获批	
	CE标志

For more information, visit www.moleculardevices.com or refer to the Molecular Devices Reagents and Supplies catalogue for details of products related to ClonePix systems.



公司简介

Molecular Devices始创于上世纪80年代美国硅谷，作为全球高通量仪器设备的领导者，一直致力于为生命科学研究及药物研发提供最先进的全方位解决方案。其产品覆盖微孔板检测分析、高通量筛选、高内涵成像、高效克隆筛选等。公司以持续创新、快速高效、一流质量的产品及完善的售后服务著称业内。

Molecular Devices为您提供高性能的分析检测系统，加快和改进药物研发及基础生命科学研究。我们的产品几乎可以满足所有通量、内涵以及预算的需求。除了科研单位和部门外，我们还帮助制药和生物技术企业从分子、细胞和系统水平去了解各项生物功能，研究开发新的治疗方法。

Molecular Devices于近几年收购了Universal Imaging Corporation(2002年)、Axon Instruments(2004年)、Blueshift Technologies(2008年)和Genetix(2011年)，从而进一步拓展了公司的产品领域。现在，Molecular Devices与Leica、AB Sciex、Beckman Coulter等公司均隶属于Danaher集团公司，我们的产品线包括：微孔板读板机系列、液体处理系统、电生理检测系统、神经细胞生物学仪器和软件、高内涵细胞成像系统、生物芯片扫描仪和软件、克隆挑选系统、Threshold系统以及筛选试剂等。其中，微孔板读板机系列涵盖了光吸收、荧光强度、化学发光、荧光偏振、时间偏振荧光等测读模式以及终点检测、光谱扫描、快速和慢速动力学的检测方法。

Molecular Devices总部位于美国硅谷中心桑尼韦尔市，并在全球设有多个代表处和子公司，包括美国、法国、英国、德国、中国、韩国、日本、巴西等。2005年，Molecular Devices 在上海设立了第一个中国代表处，2012年Molecular Devices在国内正式成立商务公司：美谷分子仪器(上海)有限公司。



扫一扫关注我们
的官方微信