

Разделяй и властвуй: 5 мифов о сортировке клеток

Ссылка на статью на сайте - http://helicon.ru/articles/index.php?ELEMENT_ID=97999

Вдумчиво и серьезно заниматься сортерами клеток «Компания Хеликон» начала в 2014 году. За эти годы мы столкнулись с целым ворохом всевозможных мифов и легенд, связанных с выбором оборудования для сортировки, и теперь готовы со всей серьезностью их развенчать.

Миф №1: Сортировка клеток – лучший способ выделения целевых клеток из гетерогенных популяций.

Сегодня есть три основные задачи, которые пользователи ставят перед клеточными сортерами: обогащение, выделение редких популяций и сортировка единичных клеток. И хотя сортер в этом отношении, действительно, и швец, и жнец, и на дуде игрец, далеко не всегда его использование является оптимальным решением. Вы же не будете покупать Порше, чтобы кататься на нем в соседний магазин?

Например, обогащение клеточной популяции – задача несложная, и решается простыми клеточными сепараторами и специальными реагентными наборами. А если говорить о таком тонком и деликатном деле, как работа с единичными клетками, то существует целый [отдельный класс приборов](#), заточенный на эффективное решение именно таких задач.

Если вы не уверены в том, какой метод лучше всего подойдет для вашей работы, всегда можно [написать](#) нашим специалистам. Мы подберем решение, которое действительно необходимо: не больше и не меньше.

Миф №2: Чем больше лазеров, тем больше флуоресцентных каналов.

Классическое заблуждение, культивируемое производителями в самых разных областях: от мобильных телефонов до научных приборов (мы [уже писали](#) о том, как *на самом деле* связано количество пикселей с качеством изображения в гель-документирующих системах). Интерес производителя здесь очевиден: чем больше, тем дороже.

На самом деле, зачастую у сортеров с одними и теми же лазерами количество флуоресцентных каналов драматически различается. Все потому, что число каналов напрямую зависит от того, как физически расположены лазеры в приборе. В сортерах с коллинеарными лазерами количество флуоресцентных каналов гораздо меньше, чем в сортерах с лазерами, разделенными в пространстве, т.к. во втором случае сигнал от каждого лазера детектируется отдельно.

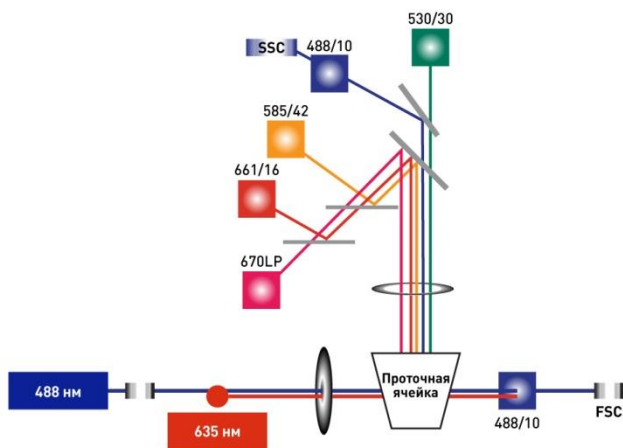


Рис.1 Оптическая схема с коллинеарными лазерами – 4 флуоресцентных канала.

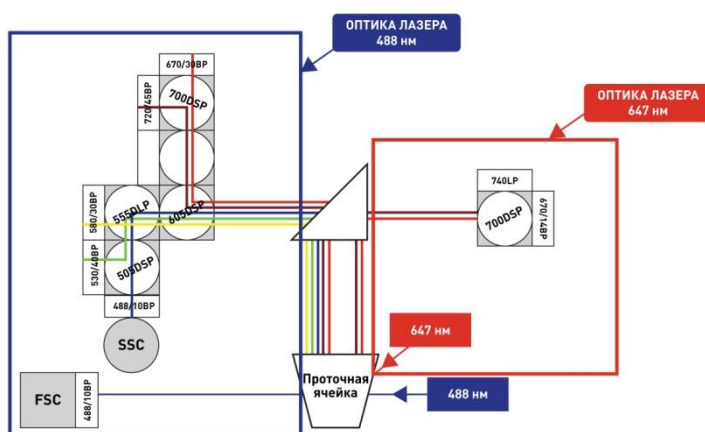


Рис.2 Оптическая схема с пространственно разделенными лазерами – 7 флуоресцентных каналов.

Миф №3: Максимальная скорость сортировки – это та скорость, с которой вы будете сортировать.

Реальность куда прозаичнее: максимальная скорость сортировки клеток – это та скорость, на которой можно сортировать калибровочные частицы при настройке сортера. Сортировка реальных клеток на таких скоростях приведет к значительному росту коэффициента вариации (CV) и падению чистоты сорта.

Такой расклад приемлем, когда стоит задача обогащения, но для обогащения есть более простые и гуманные способы (см. Миф №1). Во всех остальных случаях действительно важным является параметр чистоты сорта на заданной скорости. И вот здесь идет война за каждый лишний процент, особенно когда речь идет о редких популяциях – кто знает, не попадет ли ваша драгоценная клетка в тот самый 1%?

Миф №4: Одноразовые элементы жидкостного тракта – перспектива для клинического использования сортера клеток.

Один из самых активно распространяемых мифов, связанный с давней мечтой ученых и клиницистов использовать сортировку клеток для лечения пациентов, которую подогрел недавно вышедший [Закон N 180-ФЗ "О биомедицинских клеточных продуктах"](#).

К сожалению, этой мечте пока не суждено стать реальностью. Подавляющее большинство клеточных сортиров мирового рынка работают на технологиях, основанных на фокусировании клеток в потоке жидкости через систему капилляров. Это значит, что для гарантии стерильности и отсутствия кросс-контаминации *весь* жидкостной тракт сортера, от пробозаборника до системы сбора образца, должен быть сменным и одноразовым.

Некоторыми производителями оборудования, действительно, предпринимались попытки внедрения отдельных одноразовых элементов (например, использование сменного чипа вместо сопла), но в большинстве своем жидкостной тракт сортера до сих пор остается стационарными и требует стандартных процедур очистки. Это исключает возможность получения такими сортерами IVD сертификата за рубежом и регистрации в Минздраве РФ.

Продолжаем ждать и надеяться!

Миф №5: Чем выше чувствительность в эквивалентах (MESF), тем лучше качество сигнала.

Чувствительность в эквивалентах – это важно и хорошо. Но нужно иметь в виду, что не только MESF влияет на качество сигнала. Откровенно говоря, реальная разница между 115 и 125 MESF не так уж велика, так как большинство эпитопов содержатся в клетке в достаточном количестве, чтобы не замечать этой разницы. Кроме того, на одном антителе, как правило, связано больше одной молекулы флуорохрома, что позволяет успешно детектировать эпитопы в низких концентрациях.

Не менее важным параметром является разрешение сигнала. А разрешение зависит не только от чувствительности детекторов, но и от самой метки, от уровня автофлуоресценции объекта, от мощности лазера (чем мощнее лазер, тем больше сигнал с флуорохрома) и т.д. Как правило, в технических описаниях сортеров разрешение никак не цифруется, и единственный способ оценить этот параметр – по графикам сортировки флуоресцентных калибровочных частиц, которые часто приводят в рекламных материалах к приборам.

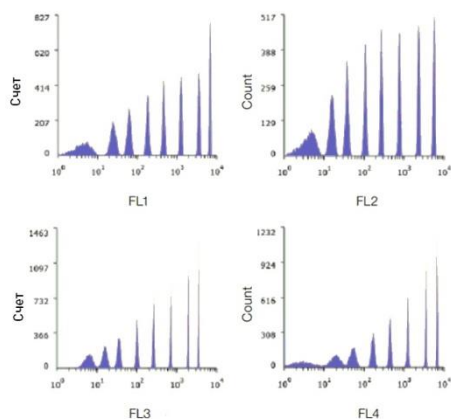


Рис.3 Пример детектирования флуоресцентных микросфер на сортере клеток. CV <2.5. Восемь пиков видны во всех 4-х флуоресцентных каналах.