



autoMACS® Pro Separator

全自动磁性细胞分选仪

采购建议书



默天旎贸易（上海）有限公司

2016.12

目录

德国默天旎生物技术有限公司介绍.....	2
autoMACS® Pro 全自动磁性细胞分选仪性能特点.....	4
autoMACS® Pro 全自动磁性细胞分选仪应用介绍.....	9
autoMACS® Pro 全自动磁性细胞分选仪采购建议.....	20
autoMACS® Pro 全自动磁性细胞分选仪部分用户名单.....	22
售后服务计划.....	23
参考文献.....	24

德国默天旎生物技术有限公司——磁性细胞分选的金标准

德国默天旎公司成立于 1989 年，以其专利的 MACS 磁分选技术和先进的单克隆抗体技术享誉全球。公司成立 27 年来，产品线不断扩充，覆盖生命科学研究的各个层面，包括样品制备、细胞分选、流式细胞分析、分子分析、细胞培养和细胞治疗、免疫吸附治疗相关的仪器、试剂及配套服务，从细胞磁性分选金标准的公司成长为拥有从基础科研到临床治疗完整产品线的专业的多元化公司，能够为基础科研和临床研究人员提供完整的解决方案。目前，默天旎的产品线已经覆盖了生命科学基础研究的各个层面：包括 gentleMACS 组织处理器及各种组织解离试剂、MACS 分选磁珠、autoMACS Pro 全自动细胞分选仪、MultiMACS Cell24 高通量细胞分选仪、MACSQuant Analyzer 流式细胞仪以及相关试剂等。与此同时，默天旎也一直致力于推进生物医学和细胞治疗的研究进展，拥有完整的细胞培养产品线：特殊细胞培养基、细胞因子和抗原刺激剂等，在转化医学及个性化细胞治疗高速发展的今天，成为该领域的领跑者。

做为新一代的生物技术公司，默天旎已经在 25 个国家设有分公司或代表处，拥有 1500 多名员工，包括不同领域的优秀人才，如生物医学、物理学、机械工程等，组成了我们稳固的研发和技术服务团队。我们以 "Researchers working for researchers" 为口号，最终用于转化医学研究领域。我们拥有强大的专家团队，将不断研发和提供各种试剂和设备，让您的研究更简便、可靠！

默天旎公司于 2001 年正式进入中国市场，拥有专业的技术支持和产品应用专家，市场部博士以上学历占 85% 以上，能够为客户提供最专业的售前、售后支持和服务。同时，公司与各地知名流式仪器及试剂经销商合作，服务范围覆盖全国，竭诚为广大客户提供最全面、优质、便捷的服务。目前市场覆盖各大高校、科研院所、医院临床科室、医药和生物技术公司和政府机构等，并将世界前沿的最新技术进展、产品和应用第一时间分享给广大客户！

Miltenyi Biotec – 技术领域

- **MACS样本制备**
 - gentleMACS™ Instruments
 - and more...



- **MACS细胞培养**
 - Cytokines and Media
 - and more...



- **MACS细胞分选**
 - autoMACS® Pro Separator
 - and more...



- **MACS分子应用**
 - MultiMACS™ Separator
 - and more...



- **MACS细胞分析**
 - MACSQuant® Analyzer
 - and more



- **临床应用**
 - CliniMACS Prodigy®
 - and more



autoMACS® Pro Separator 全自动磁性细胞分选仪性能特点

立足于知名的 MACS 磁性分选技术，Miltenyi Biotec 在十多年前研发了第一台可以自动磁性分选细胞的仪器，给细胞分选领域带来了革命性的改变。

autoMACS® Pro 磁性细胞分选仪是目前世界上最先进的全自动化磁性细胞分选仪，采用台式设计，结构紧凑，是一款计算机控制的、可高速、高纯度、高回收率地分选多种类型细胞，能顺序处理 6 个标本的全自动磁性细胞分选器。该仪器采用 MACS 磁性细胞分选技术，可实现自动细胞标记和细胞分选，包括自动进行细胞与磁珠的孵育、预冲分选柱、样本摄取、洗脱阳性成分和阴性成分、冲洗、清洗和分选柱的维护。

一、MACS 技术原理：

MACS (Magnetic Activated Cell Sorting) 技术是德国美天旎生物技术有限公司 (Miltenyi Biotec) 的专利产品，是一种集合了免疫学、细胞生物学、磁力学等知识于一体的高度特异性细胞分选技术。MACS 技术是用超顺磁性微珠磁性标记细胞或生物分子，在一个高强度、梯度的磁场中，通过 MACS®分选柱分离出磁性标记的细胞。其主要组成成分是 MACS 磁珠、MACS 分选柱和 MACS 分选器。

MACS®技术已经成为细胞磁性分选的金标准，到目前为止，MACS技术引用量已超过 20,000 篇文献，无数的文献报道证实了其强大的优势和广泛的用途：从小量分选到大规模分选，从高频细胞到稀有亚群的细胞分选，从细胞分选到生物分子纯化，从基础科研到临床应用，MACS技术在这些领域都显示了其无以伦比的优越性。

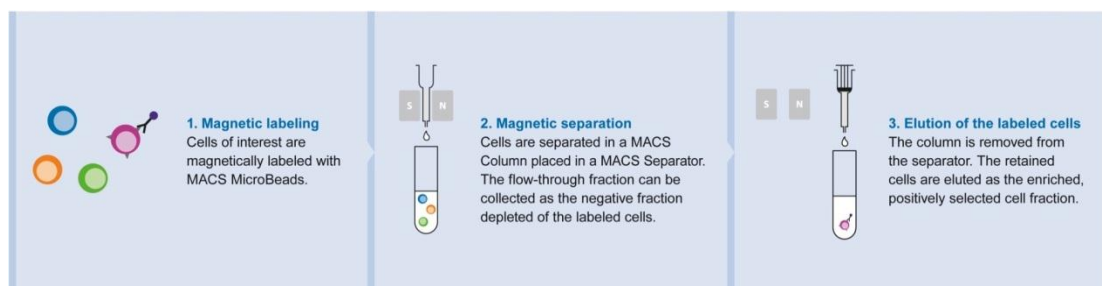


图 1：MACS 磁性细胞分选技术的原理

1. MACS磁珠

MACS磁珠是一种直径50 nm的超顺磁性颗粒，通过与高度特异性的单克隆抗体偶联，识别细胞表面的抗原表位。由于磁珠极小，因此不会占据细胞表面的所有抗原表位。在细胞分

选后，也不需要像其他大磁珠一样必须从细胞表面解离下来，而是可以直接用于后续实验。

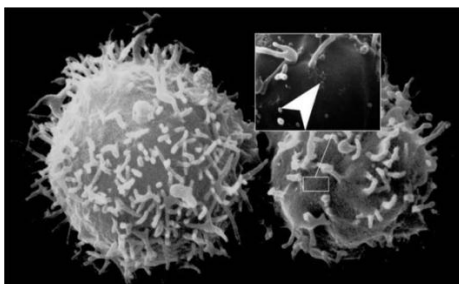


图 2：采用透射电镜扫描，观察 CD8+T 细胞表面结合的 CD8 磁珠。

MACS 磁珠采用胶体悬浮液制剂，其优势在于：（1）更快的结合动力学；（2）更短的标记时间；（3）避免与非胶体或大磁珠颗粒相关的聚团。MACS 磁珠无毒性，可以生物降解，并已通过国际标准（ISO 10993）和 USP 指南生物相容性测试。

2. MACS 分选柱

MACS 分选柱内部含有铁磁性基质，是 Miltenyi Biotec 的专利技术。分选柱的基质由铁磁性球体组成，表面有一层亲水包被，在放入磁性分选器中，可以将磁场增强 10,000 倍，在分选柱内产生高强度、高梯度的磁场。

正因为这种独特的 MACS 分选柱及其内部基质的设计，可以用最少量的磁珠标记最大量的细胞，保留足够多的抗原表位用于下游实验，如流式细胞分析，并获得最高纯度和回收率的目的细胞，从而为各种类型的细胞分选提供了理想的解决方案。此外，在整个分选过程中还完好的保护了细胞生理功能，因此分选出的细胞可立即用于任何后续研究。

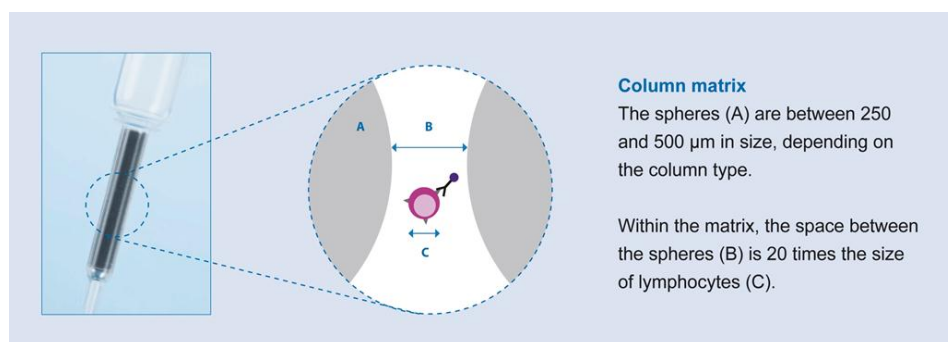


图 3：分选柱

3. MACS 技术优点：

- （1）高纯度、高回收率：分选后细胞平均纯度 95%，平均回收率 90%。
- （2）高活性：磁珠分选对细胞温和，无损伤，分选后细胞活性可达 95%，功能无改变。
- （3）稀有细胞的分选：对原始比例较低的珍稀细胞，可以快速完成分选，分选效率高，

细胞活性好，且对细胞生理功能无影响。

- (4) 操作简单：无需专人操作，无需特殊培训，可随时使用。
- (5) 与流式细胞仪兼容：分选后细胞可以立即用于流式分析或流式分选。
- (6) 结果可靠：对标本的可视性依赖性小，对仪器获取条件和人为因素依赖性小，与后续检测为双盲性，不会造成系统误差。
- (7) 阴性成分可以继续做磁性标记和分选，珍贵标本可以一份同时分选出多种细胞。

二、autoMACS® Pro Separator 全自动磁性细胞分选仪性能特点：

autoMACS pro 全自动磁性细胞分选仪是一个开放的技术平台，广泛应用于细胞生物学、免疫学、肿瘤学、血液病学研究。分选后细胞可直接用于后续实验：流式细胞术检测、分子生物学研究、回输给动物、以及功能研究，例如：肿瘤细胞的纯化、肿瘤疫苗研制、干细胞技术、免疫治疗的基础研究、异基因干细胞移植后的系特异性嵌合体分析、HLA 分型和 HIV 研究。

autoMACS pro 全自动磁性细胞分选仪的优势：

1. 高纯度、高回收率：

分选纯度高达 95%以上，回收率高达 90%，细胞活性达到 95%以上。

2. 分选速度快：

每个样本分选只需要 2.5—10 分钟，分选速度可达到 10^7 细胞/秒，完成高效、省时的自动化细胞分选。

3. 自动化程度高：

可实现全自动化的样本标记、分选和仪器准备，保证了分选结果的重复性，全自动操作过程，减少了手工操作，保证了操作人员的安全性，降低高危标本感染机会。



图 4：全自动化的细胞分选过程。

4. 操作简单：

不需特殊培训，只需要简单 3 步，轻松获得高纯度的目的细胞。autoMACS pro 分选仪配备有一个高分辨率的触摸屏，通过简洁直观的菜单栏进行操作，使用非常方便。此外，状态栏还会显示整个样本处理过程的进程。

5. 高度精准的机械臂上样和灵敏的传感器控制过程：

autoMACS Pro 分选仪采用机械臂上样，完成精确的标准化液体吸取，保证了高度重复性的结果。autoMACS pro 分选仪包含全自动化的传感器控制过程，确保样本处理的绝对安全性。溶液瓶发光提示仪器的状态，可进行远程监视，连续监测缓冲液用量和分选柱状态，自动检测硬件外围设备，确保仪器运转正常。



图 5：左图为机械臂上样，右图为溶液瓶发光颜色提示仪器状态。

6. 无菌分选，更安全：

仪器小巧，可以进操净台，耐受紫外线照射，管路消毒方便，分选试剂、分选柱、工作液为无菌性包装，既保证样本的安全，另一方面保护操作人员的安全。

7. 预设 12 种分选程序：

为了达到最好的分选效果，autoMACS Pro 分选仪内置 12 个预设分选程序。根据分选策略、目的细胞比例以及抗原表达水平的强弱，选择合适的分选程序。

8. 节省成本：

autoMACS 分选柱处于全封闭的液流系统中，可重复使用 100 次或 14 天，以先达到者为准。采用 autoMACS 分选柱可以从 4×10^9 细胞中分选出 2×10^8 磁性标记的细胞。



图 6：autoMACS 分选柱

9. 多样本分选:

配备不同型号的试管架，兼容 5 ml、15 ml 和 50 ml 试管，一次性分选多个样本，可顺序处理多达 6 个样本。



图 7: MACS chill Rack，可放置多个试管，便于完成多样本分选。

10. 精确的低温控制:

在细胞标记和分选的过程中，通过 MACS 低温试管架使样本保持在 4℃，从而减少样本的温度变化，提高细胞活率，同时避免温度变化对基因表达谱产生的影响。

11. 全血细胞分选:

可用全血样本直接分选，无需提前进行红细胞裂解或密度梯度离心的预处理。

12. 适用范围广:

从少量标本 (10^5) 到大量标本 (4×10^9)，进样量 0.2ml-50ml。

13. 高度兼容性:

相容 350 种以上的 MACS 分选试剂，可以方便快速地分选几乎任何物种的任何类型细胞。有数千种磁珠和荧光抗体产品支持，尤其是 CD133、BDCA-2 (CD303)、BDCA-4 (CD304) 等专利产品和 CRTH2 (特异性分选 Th2 细胞)、CSA (特异性分选细胞因子分泌细胞)、TCR γ/δ 、小鼠 mPDCA-1 (特异性分选小鼠 pDC) 产品，可以完成同类产品不能实现的分选。

autoMACS® Pro Separator 全自动磁性细胞分选仪应用领域：

autoMACS pro 磁性细胞分选仪配合美天旻的各类细胞分选试剂，能够从各种物种和样品中获得几乎所有类型的细胞，从而保证了实验操作的高度灵活性。MACS®细胞分选试剂在许多高端的关键性科研领域有其强大的作用并表现出了显著的优势，包括免疫学、神经生物学、干细胞和肿瘤学研究。

一、在免疫学中的应用

autoMACS pro 磁性细胞分选仪可用于分选各种类型的免疫细胞，包括：

1. T 细胞

T 细胞包含多种不同类型的亚群，这些亚群在细胞免疫中又有不同的作用，因此，分离特定亚群的 T 细胞对研究是非常重要的。MACS®可提供多种配套试剂，高效、稳定地分离总 T 细胞、调节性 T 细胞（Treg）、抗原特异性 T 细胞（包括 IL-17 分泌型的 Th17）等等。

(1) 总 T 细胞，CD4+ T 细胞，CD8+ T 细胞：

这些经典的 T 细胞类型可以根据实验需求，通过阳性分选或阴性分选的策略进行分选，操作方便快捷，分选效率高，结果可靠。采用 MACS 磁珠分选的 T 细胞可用于：①与树突状细胞共培养；②体外活化扩增；③体外分化；④细胞毒性检测；⑤流式细胞分析；⑥细胞因子分析；⑦基因表达谱分析；⑧信号通路分析。

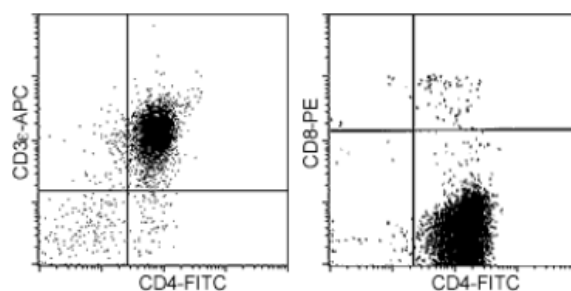


图 8：小鼠脾脏 CD4+ T 细胞分选后纯度流式检测结果。将小鼠脾脏制备成单细胞悬液，用 CD4（L3T4）microbeads, mouse（# 130-049-201）标记细胞，在 autoMACS pro 磁性细胞分选仪上运行“Possel”程序，即可获得 CD4+ T 细胞。用 CD4-FITC，CD8-PE，CD3ε-APC 流式抗体进行流式标记，然后在 MACSQuant 流式细胞仪上检测。

(2) 初始 T 细胞（Naïve T cell）、效应 T 细胞（effector T cell）和记忆性 T 细胞（memory T cell）：

T 细胞适应性免疫应答可分为三个阶段：1）识别阶段：初始 T 细胞（naïve T cell）通过 TCR 识别由抗原提呈细胞（APC）提呈的抗原；2）活化增殖阶段：识别抗原后，在协同刺激分子的参与下，T 细胞活化、增殖和分化，产生活化的效应细胞（Activated effector T cell）、

效应分子（如抗体、细胞因子），部分存活下来变成记忆性 T 细胞（Memory T cell）；3）效应阶段：由效应细胞和效应分子清除抗原。另外，存活下来的中央记忆性 T 细胞（Central Memory T cell），在遇到抗原二次刺激后，可分化为效应 T 细胞，快速清除抗原分子。

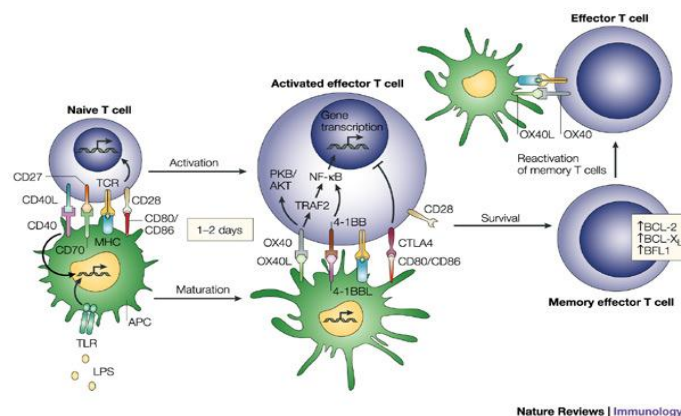


图 9：T 细胞免疫应答过程。

对免疫应答中不同阶段的 T 细胞，可通过 MACS 阳性分选或阴性分选，将各种 T 细胞群体（初始 T 细胞、活化 T 细胞、记忆性 T 细胞）分别分选出来，用于下游的表型分析、生理功能或分子生物学研究。

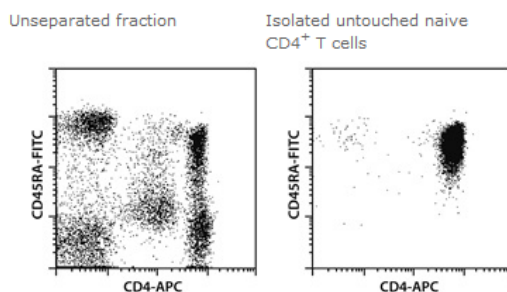


图 10：人初始 CD4⁺ T 细胞分选前后流式检测结果。从人外周血通过密度梯度离心分离 PBMC，然后用 Naive CD4⁺ T Cell Isolation Kit, human (# 130-094-131) 标记样本，在 autoMACS pro 磁性细胞分选仪上运行“Depletes”程序，获得的阴性组分即 naive CD4⁺ T 细胞。用 CD45RA-FITC 和 CD4-APC 染色，在 MACSQuant 流式细胞仪进行检测。图示分选前 PBMC（左图）和分选后阴性组分（右图）。

(3) 调节性 T 细胞：

CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞在免疫系统中发挥免疫抑制作用，其标志是转录因子 Foxp3 表达阳性。通过 MACS 磁性分选技术可以分选得到高表达 Foxp3 的功能性 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞，此外，分选后的 CD4⁺CD25⁺ T 细胞在抑制检测中可以作为效应性 T 细胞。通过分选获得的人 Treg 细胞可用于研究自身免疫性疾病、抗肿瘤免疫、树突状细胞疫苗、过敏、感染疾病等，小鼠 Treg 细胞已用于各种细胞和动物模型，包括过继性转移、自身免疫、黑色素瘤、

体外抑制功能检测等。

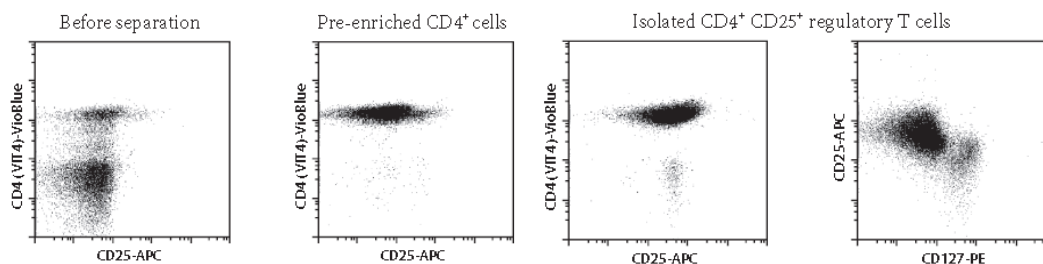


图 11: 人 Treg 细胞分选前后流式检测结果。从人外周血通过密度梯度离心分离 PBMC, 使用 CD4+CD25+ Regulatory T Cell Isolation Kit, human (# 130-091-301)分选。在 autoMACS pro 磁性细胞分选仪上运行“Depl05”程序去除非 CD4 细胞, 然后运行“Posseld2”程序分选得到 CD4+CD25+目的细胞。用 CD4-VioBlue, CD127-PE 和 CD25-APC 染色, 在 MACSQuant 流式细胞仪进行检测。上图分别显示分选前 PBMC (左图)、去除非 CD4 细胞后 (中间图)、和 CD25 磁珠富集后 (右图) 流式检测结果。

(4) 稀有 T 细胞, 如双阴性 T 细胞或 RTE 细胞

除了 Treg 细胞可以发挥免疫抑制功能外, 双阴性 T 细胞 (CD4-CD8-TCR α/β +细胞) 被报道也可以特异性下调免疫应答。双阴性 T 细胞鉴于淋巴器官和某些非淋巴组织, 在外周血中占 CD3+细胞的 1-3%, 比例极低, 因此要想对这群细胞深入研究, 需要首先将这群细胞分离纯化。MACS 磁珠分选方法可以快速从人外周血分选获得高活性的双阴性 T 细胞, 便于进行下游研究。

(5) NKT 细胞:

NKT 细胞是 T 细胞中的一个亚群, 在固有免疫中发挥重要作用, 与某些自身免疫性疾病的发生, 肿瘤免疫, 以及抗病毒、细菌、真菌和寄生虫免疫应答有关。通过去除分选结合阳性分选, 可以有效的分选出 CD3+CD56+ NKT 细胞, 用于各种下游实验, 包括分泌的细胞因子水平检测、基因谱分析、细胞表面受体的功能研究、细胞毒性和细胞杀伤活性功能研究。

2. B 细胞:

B 细胞的特征性表面标志是膜免疫球蛋白, 即 B 细胞受体, 经抗原激活后可分化为浆细胞, 产生与其所表达 B 细胞受体具有相同特异性的抗体, 介导体液免疫应答。通过 MACS 技术可以分选得到 B 细胞及各种亚群, 包括初始 B 细胞、活化 B 细胞、记忆性 B 细胞和浆细胞等。

3. DC 细胞

根据来源, 可将 DC 分为髓系来源的 DC (mDC) 及淋巴系来源的 DC (pDC) 两大类, 尽管这两大类 DC 均起源于体内的多能造血干细胞, 但它们来源于各自的前体细胞且各有不

同的功能特点。

DC 细胞在人外周血中的含量非常低，不到 1%，研究这群细胞较为困难，采用 MACS 技术，以及专利 CD304、CD304 系列产品，可以从人外周血样本快速分选得到 pDC 细胞、mDC 细胞，或全部 DC 细胞。在小鼠 DC 研究中，常用 CD11c 磁珠从小鼠脾脏中分选 CD11c⁺ DC 细胞，用于各种下游实验，如 T 细胞与 DC 细胞共培养。

4. NK 细胞

自然杀伤细胞（natural killer cell, NK）是机体重要的免疫细胞，不仅与抗肿瘤、抗病毒感染和免疫调节有关，而且在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生。常用的 NK 细胞标志是 CD56，但 CD56⁺ 细胞中还含有一部分 CD3⁺CD56⁺ NKT 细胞。采用磁珠阴性分选方法可以从人外周血样本分选得到高纯度的 NK 细胞，排除 NKT 细胞的干扰。

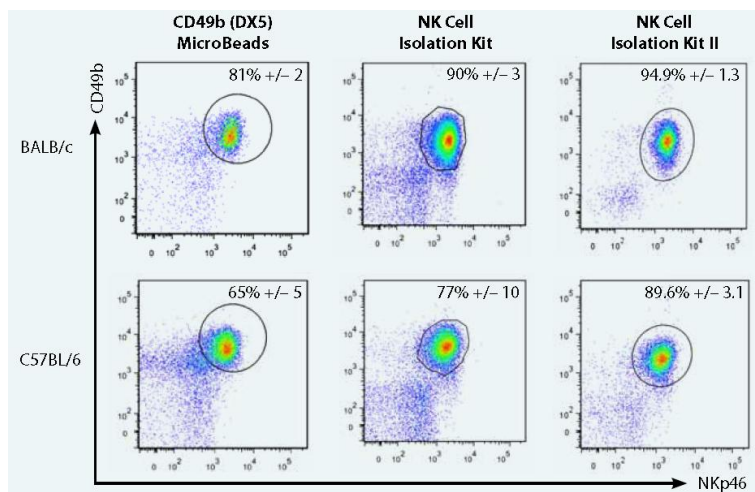


图 12: 采用 MACS 技术的阳性分选（CD49 (DX5) MicroBeads, mouse）和阴性分选（NK cell Isolation kit）策略，分别从 BALB/c 小鼠和 C57BL/6 小鼠脾脏中分选 NK 细胞。

5. 单核细胞/巨噬细胞

CD14 高表达于单核细胞和巨噬细胞表面，是分选单核细胞的常用标志。采用 CD14 microbeads, human 可以快速从人外周血分选得到 CD14⁺单核细胞。最常见的下游应用是将分选的单核细胞向 DC 分化，与传统贴壁法相比，可以得到高纯度的 Mo-DC 细胞，避免其他细胞的污染。此外，分选出的单核细胞还可用于巨噬细胞分化、细胞毒性或迁移试验。下图显示，从 26 位志愿者分别获得 78 份样本，单核细胞占外周血白细胞的中 8.1±2.25%，分选后纯度高达 94.1±6.17%，回收的单核细胞数是 1.3±0.55 ×10⁶，细胞活性约 96%。

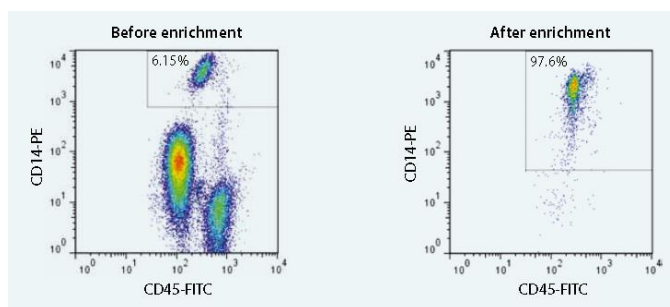


图 13: 采用 autoMACS pro 磁性细胞分选仪, 结合 whole blood CD14 microbeads, 从全血样本直接分选 CD14⁺ 单核细胞。在分选前后取样, 用 CD14-PE 和 CD45-FITC 抗体标记, 然后在 MACSQuant 流式细胞仪上检测。

6. 细胞因子分泌细胞

MACS®细胞因子分泌分析技术 (cytokine secreting assay, CSA) 是美天旎专有的技术, 专为富集和高敏感地检测有活性的细胞因子分泌型细胞而研发。

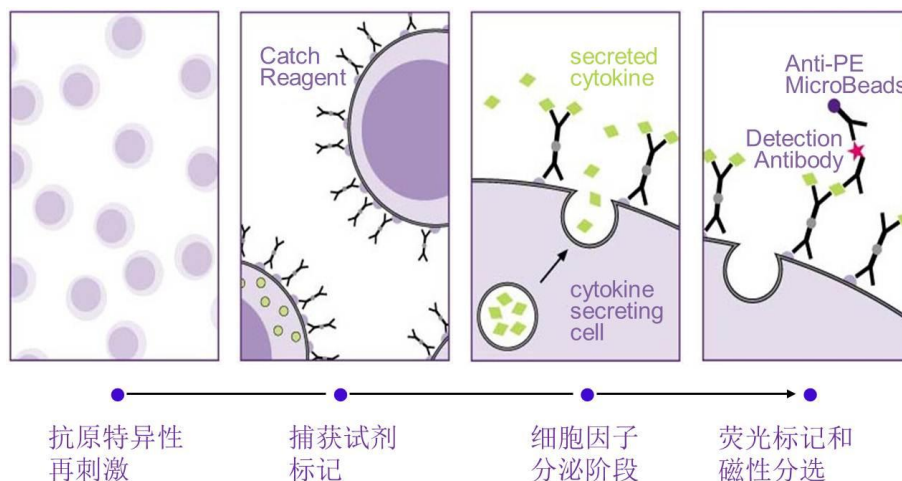


图 14: 细胞因子分泌试验 (CSA) 原理。

这项技术可以做到:

- (1) 磁性富集分泌细胞因子的活细胞, 提高检测灵敏度, 可以从百万个 T 细胞中检测到一个抗原特异性 T 细胞;
- (2) 分选出的细胞可以立即用于下游应用: 例如, 细胞培养和分析;
- (3) 在单细胞水平分析细胞因子的分泌;
- (4) 在检测分泌细胞因子的细胞时, 还可以同时鉴定这些细胞的表型, 包括细胞亚群及活化状态;
- (5) 检测不同细胞因子的共表达;
- (6) 同时染色抗原肽-MHC 多聚体, 可分析细胞功能;

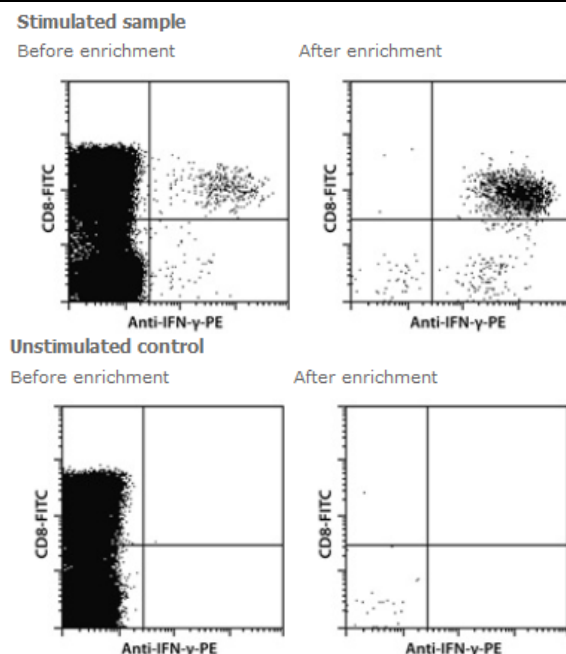


图 15: 从 CMV+供者外周血分离 PBMC 细胞, 用 PepTivator™ CMV pp65 特异性抗原肽刺激, 或者无刺激组作为对照。使用 IFN-γ Secretion Assay – Cell Enrichment and Detection Kit (PE), human 试剂盒富集分泌 IFN-γ 的细胞, 分选后用 CD8-FITC 和 IFN-γ-PE 抗体染色, 流式检测分泌 IFN-γ 的细胞。

二、在干细胞研究中的应用

HSC 研究为了解造血细胞再生及其在临床的应用做出了很大的贡献。与流式细胞分选仪相比, 采用 autoMACS pro 磁性细胞分选仪可以有效减少样本处理时间, 减少对干细胞产生的压力, 更好的保护干细胞的自我复制和造血分化能力。

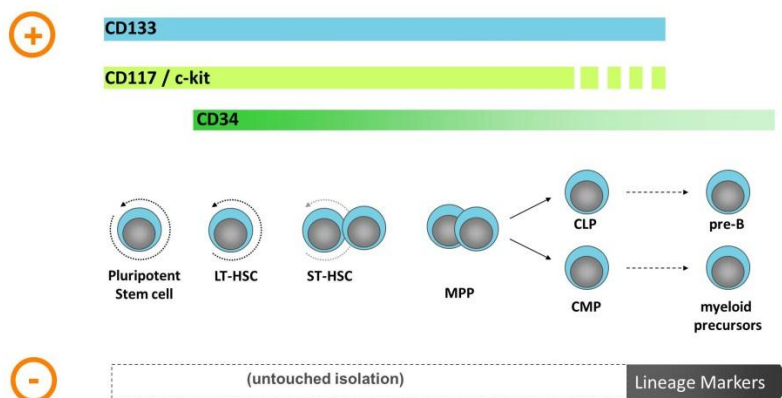


图 16: 干细胞发育阶段及 MACS 分选指标。

CD34 磁珠自 1993 年推出以来, 被各大期刊引用超过 2,000 次, 且已成功应用于临床干细胞移植, 真正实现了从基础科研到临床转化的标准化无缝衔接。此外, CD133 作为美天旎的专利产品, 该标志从多能干细胞阶段即开始表达, 结合 CD117/c-kit 等标志, 可以进一步推进干细胞研究。

CD133 不仅表达于造血干细胞、循环内皮祖细胞、胎儿神经干细胞以及其他组织特异性干细胞（如肾脏、前列腺和角膜干细胞），还表特异性表达于多种实体瘤的肿瘤干细胞中，包括胶质母细胞瘤、肺癌、前列腺癌、胰腺癌和肾癌，已成为目前应用最广泛的肿瘤干细胞标志之一。

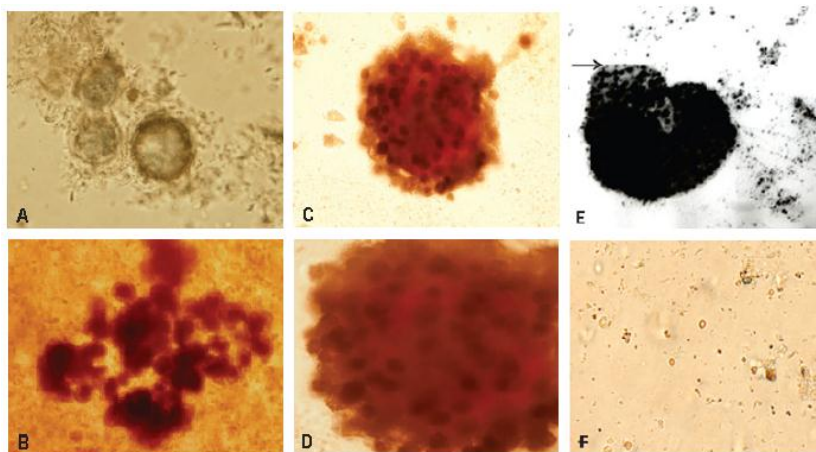


图 17: 神经胶质瘤中分选出 CD133+肿瘤干细胞后,进行神经球培养。(Adopted from: Einstein (Sao Paulo). 2012 Apr-Jun;10(2):197-202)

三、在肿瘤研究中的应用

1. 循环肿瘤细胞 (Circulating Tumor Cell, CTC)

CTC 的含量非常少，一般在 10 ml 血液中只有几十个，晚期患者的 CTC 数量会增加，而 10 ml 血液则含有大约 1 亿个白细胞和 500 亿个红细胞。因此，最好首先对临床血样中的 CTC 进行富集，然后进行生物学、遗传学等检测和分析。免疫磁珠分选法是目前最常用的 CTC 富集方法。

对于外周血中的 CTC 细胞，可采用阳性分选或阴性分选。阳性分选可采用的肿瘤标志物有 CD326、ErbB2、细胞角蛋白。CD326，也称为 EpCAM，表达于上皮来源的细胞、上皮来源的肿瘤细胞、循环肿瘤细胞和肿瘤干细胞中，是肿瘤细胞阳性分选中最常用的肿瘤标志物。然而，大多数但不是所有的癌细胞表达高水平 EpCAM，此时可采用阴性分选策略。通过 CD45 磁珠可以去除外周血中的白细胞，从而达到富集肿瘤细胞的目的，此种方法覆盖面广，可以应用于所有类型的肿瘤 CTC 分选，缺点是分选的阴性组分中可能含有其他细胞或颗粒。可以有效富集人外周血或其他组织样本中的 CTC 细胞。也有研究人员将阳性分选与阴性分选相结合，可以进一步提高 CTC 分选的纯度和效率。

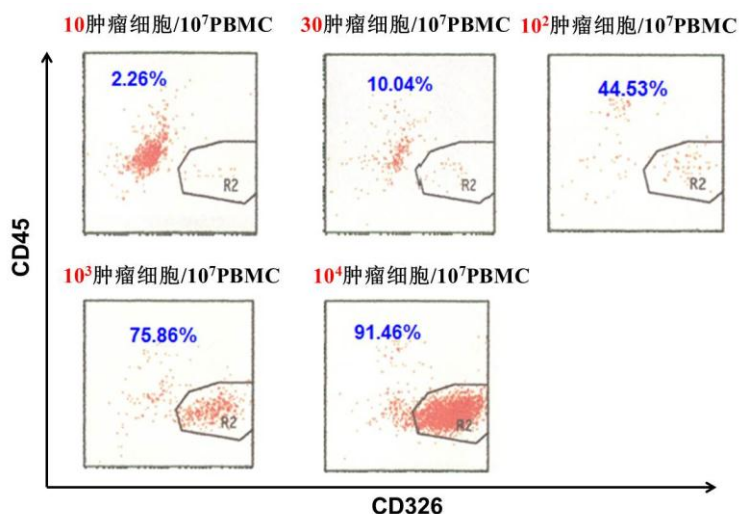


图 18: 从健康人外周血分选得到 PBMC, 在 10⁷ PBMC 细胞中分别掺入 10、30、100、1000 和 10,000 个 CD326+ 肿瘤细胞, 然后用 CD45 磁珠进行去除分选, 流式检测分选效果。

2. 肿瘤细胞分选

在新药研发、肿瘤干细胞生物学及肿瘤转移等研究中, 越来越多的研究者将目光对准了原代肿瘤细胞。与肿瘤细胞系相比, 原代肿瘤细胞研究结果更为可靠。采用 MACS 技术, 可从人原代肿瘤组织分选得到原代肿瘤细胞, 或者在人移植瘤的小鼠模型中, 通过去除小鼠来源的组织细胞, 得到人移植瘤肿瘤细胞, 从而避免其他细胞对下游肿瘤研究的干扰。分选得到的肿瘤细胞可用于肿瘤细胞培养、肿瘤干细胞成球试验、基因表达谱分析、小鼠过继转移实验等。

从肿瘤组织获得的细胞含有多种细胞组分, 包括肿瘤细胞、肿瘤浸润淋巴细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞等多种细胞组分。这些细胞组分的比例各异, 受到多种因素影响, 如肿瘤类型、生长速度及累及脏器部位。因此, 要获得准确的下游实验结果非常困难。例如, 在肿瘤细胞培养时, 由于成纤维细胞贴壁生长, 且生长速度很快, 常常会影响肿瘤细胞的生长。同时, 其他细胞混杂也会对下游结果产生影响, 如药敏试验。采用美天旎的人肿瘤细胞分选试剂盒, 可以从原代肿瘤组织细胞中分选得到纯化的原代肿瘤细胞, 获得更加准确可靠的结果, 如药敏试验、基因芯片分析等。

在(小鼠)移植瘤模型中, 肿瘤组织中还含有肿瘤浸润局部组织来源的小鼠细胞, 传统方法用 CD45 和 MHC-I 标志去除小鼠组织细胞, 效果并不理想, 不能有效的去除小鼠组织细胞, 如皮肤、肺脏、脑组织、肾脏、骨骼肌组织的实质细胞。采用美天旎的 mouse cell depletion kit, 精选多种标志组合, 可有效去除移植瘤中的小鼠组分。

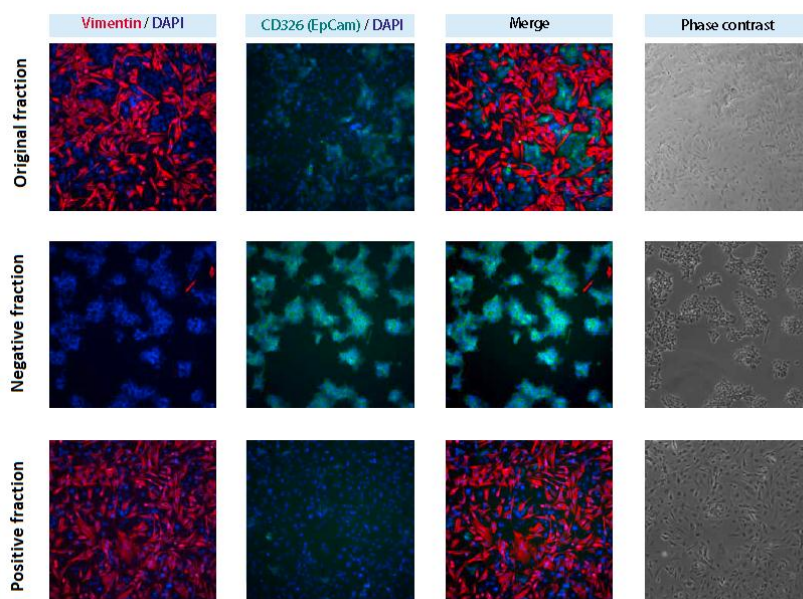


图 19: 肿瘤细胞培养。从人移植瘤的小鼠模型中取出人移植瘤，制备成单细胞悬液，采用 mouse cell depletion kit，在 autoMACS pro 磁性细胞分选仪上，运行“Depletes”程序，获得阴性组分（人肿瘤细胞）、阳性组分（小鼠细胞，包括成纤维细胞），分别培养的结果。

四、在神经科学研究中的应用

认识神经系统的发育、自体调节和引起其失调的原因是目前神经科学家提出的一些基本问题。获得均一的神经细胞群是研究细胞功能的重要因素。采用 MACS 技术可以分选得到各种类型的神经细胞亚群，包括神经元细胞、神经前体细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞、少突胶质细胞等。传统采用 shake-off 方法分离一些神经细胞，如星形胶质细胞，一般需要 2 周时间，MACS 技术只需要 1 个小时即可完成。

五、疟疾：

抗疟疾新药的研发需要利用纯化的疟疾感染红细胞（RBCs），去除未被感染的红细胞。采用 autoMACS Pro Separator 可以分选出被恶性疟原虫感染的红细胞。

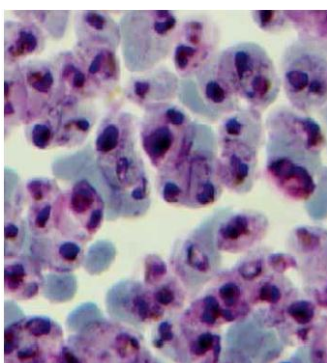


图 20: 分选后的 RBC 进行 GIEMSA 染色，镜下观察。

六、嵌合体分析：

高度纯化的细胞是灵敏的系别特异性嵌合体分析、交叉配血分析和 HLA 应用的先决条件。在异基因干细胞移植后早期，受者体内同时存在供者细胞与受者自身细胞，尤其是低强度预处理的异基因造血干细胞移植患者，这种状态即嵌合体。嵌合体分析可以提示异基因干细胞移植后供者细胞的移植进程或是否出现移植失败，而特定细胞群体的嵌合体状态可以更加准确地预测早期移植排斥反应、移植物抗宿主疾病(GvHD)、复发的可能性。采用 autoMACS Pro 磁性细胞分选仪，搭配全血磁珠，可直接从移植后病人外周血样本中分选出细胞，随后用于嵌合体分析。本方法简单快捷，分选得到高纯度的特定系别细胞，为准确的嵌合体分析提供可靠的结果。

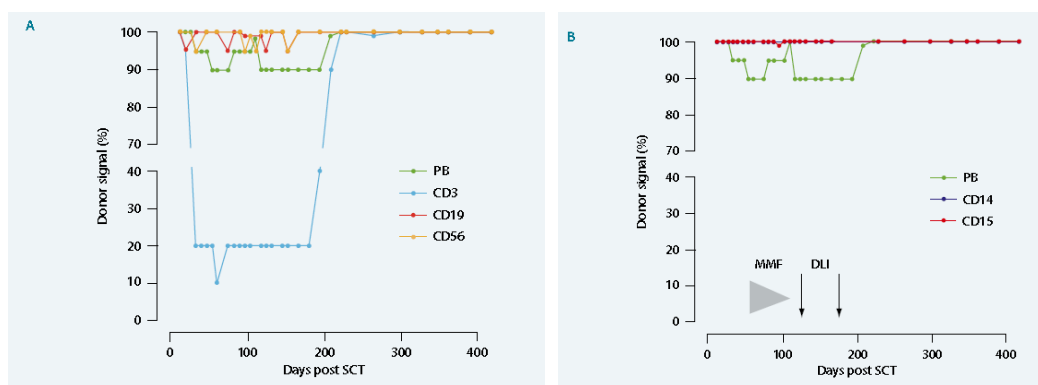


图 21：异基因造血干细胞移植患者的外周血、单个核细胞（左图）和髓系细胞（右图）的嵌合体分析。该患者在移植前已去除 CD3+和 CD19+细胞，CD3+细胞分析提示，在移植后 33 天出现自体信号，外周血 CD3+细胞中自体信号占 80%。而在外周血（PB）中，自体信号非常少，只占 10%。表明，特定细胞群体的分析比整个外周血样本分析可以得到更准确深入的结果。在移植后第 56 天开始给予免疫抑制药物（麦考酚酸莫酯）并未显著减少自体新信号。相反，在第 142 天合 182 天给予供者淋巴细胞输注（DLI）后，CD3+细胞和 PB 样本全部恢复成供者信号，并一直持续到随访期结束（820 天）。

七、多发性骨髓瘤：

采用 autoMACS Pro 磁性细胞分选仪和全血 CD138 磁珠可以从骨髓直接分选出浆细胞，无需裂解红细胞或密度梯度离心，减少手动操作时间，完成标准化、自动化的细胞分选，同时提高目的细胞的回收率，并保护操作者处理多发性骨髓瘤样本的安全性。分选的 CD138+细胞可用于后续 FISH 检测染色体异常、基因组分析，或其他敏感的下游分子分析（如单核苷酸多态性分析）。美天旎提供规范化的 SOP，可再 1 天内自动处理多个样本，并维持样本的高度完整性。

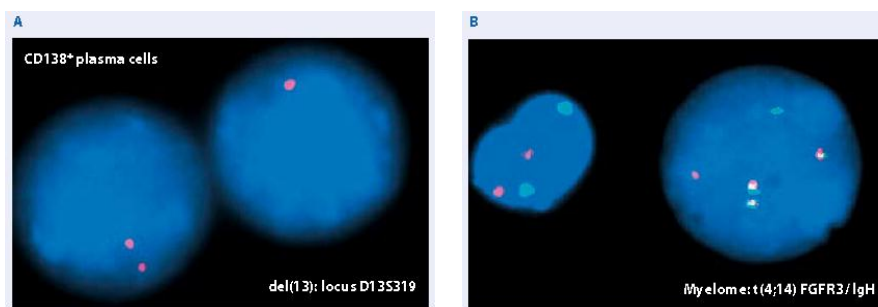


图 22: 分选 CD138+细胞后 FISH 检测图。

图 A: 分选 CD138+细胞后, 用 LSI D13S319 单色探针杂交。左边细胞正常, 可见 2 个橙色信号, 右边是恶性肿瘤细胞, 只有 1 个橙色信号, 是因为染色体部分缺失 (D13S319 基因位点缺失或单倍体染色体);

图 B: 分选 CD138+细胞后, 与 LSI IGH/FGFR3 双色, 双融合异位探针(t(4;14)(p13;q32))杂交。左边细胞是正常细胞, 可见 2 个橙色 (FGFR3) 信号和 2 个绿色 (IGH) 信号; 右边细胞是肿瘤细胞, 信号宜昌, 有 1 个橙色 (FGFR3) 信号和 1 个绿色 (IGH) 信号, 以及 3 个融合信号, 提示染色体异位 t(4;14) FGFR3/IGH。

八、HIV:

采用 autoMACS Pro Separator 和全血磁珠, 减少了样品处理和手动操作的步骤, 最大程度地降低 HIV 研究中病毒暴露的风险。只需要准备好全血样本, 让仪器完成整个细胞分选过程。

九、酵母细胞的分选:

不论纯化酵母细胞是用于肿瘤研究模型或者纯化抗体文库, autoMACS Pro 磁性细胞分选仪可以容纳 50mL 样品, 高效分选出带标签的目的细胞。

十、分子领域的应用:

高质量的样本有助于得到更理想的结果。分选高纯度的活细胞, 用于灵敏的下游分子分析, 如全基因组分析、SNP 分析和下一代测序。

autoMACS® Pro 全自动磁性细胞分选仪采购建议：

1. 台式设计，体积小：

可以将仪器放在超净台或生物安全柜中，既保证样本不受外界环境污染，更能够保护操作人员的安全，避免操作者被有生物危害性样本污染。对于样本和操作者来说，起到双向保护作用。对于无生物安全危害的实验室，则不需要为仪器安装定制特殊实验室或特定规格的实验台。配合触摸屏技术，生物安全柜中无需放置电脑。

2. 自动化、操作简单：

可以实现自动标记、自动上样、自动分选，步骤简单，操作方便，不需要经过复杂的专门培训。此外，采用一键式开机、关机和系统清洗、消毒，设备维护简单。

3. 分选快速、节省时间：

每个样本分选只需要2.5-10分钟，配备不同型号的低温试管架，可一次性批量处理6个样本，全天8小时工作日可分选48个样本，为高通量细胞分选提供了快捷自动化平台。

4. 高通量细胞分选：

每个样本，可从 4×10^9 细胞分选得到 2×10^8 磁性标记细胞，分选速度高达 10^7 细胞/秒，一次可顺序处理多达6个样本，每个样本最多可达40ml。

5. 高细胞活性：

温和的分选过程，在分选过程中维持细胞环境 4°C ，可以保证细胞的高活性，或者避免环境温度变化对细胞性能，如基因表达谱，带来的不良影响。

6. 出色的细胞纯度和卓越的RNA品质：

细胞分选纯度高，MACS技术引用次数达20,000篇以上，分选得到的细胞可用于各种下游实验，包括细胞培养、流式分析、分子生物学应用、HLA分型和基因芯片等。

7. 全血细胞分选：

无需红细胞裂解或密度梯度离心，采用专门的全血分选程序，可直接从全血样本中分选得到目的细胞，每个样本全血体积可达15ml，实现真正的全血细胞分选。

8. 快速分离稀有细胞：

缩短分选时间，保护细胞功能的完整性，例如干细胞分选、循环肿瘤干细胞分选等。

9. 拥有独特的程序：

立足于MACS技术，内设12个分选程序，包括阳性分选和阴性分选，适用于不同比例的

目的细胞、表达不同抗原强度的抗原的目的细胞分选。此外，采用CSA技术，还可以分选得到高活性的可分泌细胞因子的细胞，完成流式分选无法获得的细胞，用于各种感染免疫、辅助性T细胞研究，满足不同研究领域的需求。

10. 闪光储液瓶

储液瓶LED 设计，可随时监控溶液状态，待机、正常运行、鞘液液面低时，LED 灯分别显示不同颜色，便于随时随地监控仪器工作状态。

11. 比流式分选性价比高：

避免了长时间的分选和由此而产生的额外费用。

12. 耗材成本低

分选柱可重复使用100次，无枪头、清洗液等隐性耗材成本。

13. 噪音低：

静音设计，避免操作人员暴露于噪音污染中，有利于保护操作人员的人身安全。

14. 完善的技术支持和售后服务

在中国多处设有办事处，技术支持团队由经验丰富的技术应用专家和经过严格培训的工程师组成，可提供从仪器操作到实验应用的各种帮助。

综上所述，autoMACS® Pro磁性细胞分选仪为目前细胞分选市场上最具有综合竞争力的全自动细胞分析仪。

autoMACS® Pro 全自动磁性细胞分选仪部分客户名单：

用户名单	应用方向
上海交大医学院，免疫学研究所	免疫学
清华大学，免疫学研究所流式平台	免疫学
中国医科院，协和基础医学研究所	免疫学
浙江大学，生命科学研究院	免疫研究
中山大学医学院，免疫教研室	免疫研究
中国医大附属第一医院，内分泌研究所	免疫学
中山三院，临床免疫学中心	调节 T 细胞与自身免疫性疾病的关系
解放军 309 医院，移植中心	移植免疫
解放军 304 医院，创伤外科	创伤后免疫修复
武汉同济医院，感染免疫科	感染免疫
中国中医科学院，中医基础理论研究所	免疫微环境
北京佑安医院，肝炎实验室	炎症研究
中国医大附属第一医院，P3 实验室	HIV 研究
复旦大学附属中山医院，肝病研究所	炎症与肿瘤研究
北京胸科医院	肿瘤研究
北京肿瘤医院，防治研究所	肿瘤研究
南方医科大学，肿瘤研究所	免疫学、干细胞、循环肿瘤细胞研究
西南医院，病理科	肿瘤研究
中国科学院广州生物医药与健康研究院	造血干细胞研究
山东中医药大学，眼科研究所	眼科疾病研究
南方医科大学南方医院，消化科	消化道疾病研究
中国医科院，皮肤病研究所	皮肤疾病研究
同济大学东方医院，转化医学研究中心	转化医学
江苏省血吸虫病防治研究所	血吸虫研究
广东省中医院，中心实验室	免疫学、肿瘤学研究

售后服务计划

1. 装机后免费现场上机培训及演示实验，包括：
 - a) MACS磁性细胞分选技术介绍；
 - b) MACS技术应用领域介绍；
 - c) autoMACS pro磁性细胞分选仪仪器结构及硬件组成介绍；
 - d) 开机、关机程序及软件使用；
 - e) 细胞分选演示：CD4+细胞分选操作演示（如有需要）；
 - f) 仪器维护与保养；
 - g) 分选平台管理培训；
2. 提供完善的技术支持服务，接到用户咨询电话或邮件作出快速的技术服务响应；
3. 定期上门随访，帮助用户解决使用过程中可能遇到的问题；
4. 预约讲座服务，根据用户实验需求，提供细胞分选不同研究方向的应用讲座和咨询；
 - a) MACS技术在免疫学研究中的应用
 - b) MACS技术在干细胞研究中的应用
 - c) MACS技术在肿瘤研究中的应用
 - d) MACS技术在神经科学研究中的应用
 - e) 其他
5. 提供及时的售后服务，接到用户维修请求后24小时内作出快速服务响应。

参考文献：

免疫学应用：

1. Kulis, M. et al. (2015) Whole-genome fingerprint of the DNA methylome during human B cell differentiation. *Nat. Genet.* 47(7): 746–756.
2. Kuwahara, M. et al. (2014) The Menin-Bach2 axis is critical for regulating CD4 T-cell senescence and cytokine homeostasis. *Nat. Commun.* 5: 3555.
3. Riquelme, P. et al. (2013) IFN- γ -induced iNOS expression in mouse regulatory macrophages prolongs allograft survival in fully immunocompetent recipients. *Mol. Ther.* 21: 409–422.
4. Perez, J. et al. (2011) Accumulation of CD4⁺ T cells in the colon of CsA-treated mice following myeloablative conditioning and bone marrow transplantation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 300: G843–G852.
5. Bonnefoy, F. et al. (2011) TGF- β -exposed plasmacytoid dendritic cells participate in Th17 commitment. *J. Immunol.* 186: 6157–6164.
6. Soroosh, P. et al. (2011) Herpesvirus entry mediator (TNFRSF14) regulates the persistence of T helper memory cell populations. *J. Exp. Med.* 208: 797–809.
7. Li, L. et al. (2011) Transcriptional regulation of the Th17 immune response by IKK α . *J. Exp. Med.* 208: 787–796.
8. Nanua S. et al. (2011) Activation of the unfolded protein response is associated with impaired granulopoiesis in transgenic mice expressing mutant Elane. *Blood*: 117: 3539–3547.
9. Sun J.C. et al. (2011) Homeostatic proliferation generates long-lived natural killer cells that respond against viral infection. *J. Exp. Med.* 208: 357–368.
10. Liu X. et al. (2011) High-dose dexamethasone shifts the balance of stimulatory and inhibitory Fc receptors on monocytes in patients with primary immune thrombocytopenia. *Blood* 117: 2061–2069.
11. Janikashvili N. et al. (2011) Allogeneic effector/memory Th-1 cells impair FoxP3⁺ regulatory T lymphocytes and synergize with chaperone-rich cell lysate vaccine to treat leukaemia. *Blood* 117: 1555–1564.
12. Sanz E. et al. (2010) Ordering human CD34⁺CD10[–]CD19⁺ pre/pro-B-cell and CD19[–] common

lymphoid progenitor stages in two pro-B-cell development pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 5925–5930.

13. Cai S.F. et al. (2010) Granzyme B is not required for regulatory T cell–mediated suppression of graft-versus-host disease. *Blood* 115: 1669–1677

肿瘤研究应用:

1. Bénéteau, M. et al. (2012) Combination of glycolysis inhibition with chemotherapy results in an antitumor immune response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 109: 20071–20076.
2. Liu, Y. et al. (2011) Expression of p16INK4a prevents cancer and promotes aging in lymphocytes. *Blood* 117: 3257–3267.
3. Vargova, K. et al. (2011) MYB transcriptionally regulates the miR-155 host gene in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 117: 3816–3825.
4. Tawara, I. et al. (2011) Interleukin-6 modulates graft-versus-host responses after experimental allogeneic bone marrow transplantation. *Clin. Cancer Res.* 17: 77–88.
5. Tokunaga, M. et al. (2010) BCR-ABL but not JAK2 V617F inhibits erythropoiesis through the ras signal by inducing p21CIP1/WAF1. *J. Biol. Chem.* 285: 31774–31782.
6. Thompson, E.D. et al. (2010) Tumor masses support naive T cell infiltration, activation, and differentiation into effectors. *J. Exp. Med.* 207: 1791–1804

干细胞研究应用:

1. Haus, D.L. et al. (2014) CD133-enriched xeno-free human embryonic-derived neural stem cells expand rapidly in culture and do not form teratomas in immunodeficient mice. *Stem Cell Res.* 3:214–226.
2. Carlson, S. et al. (2011) Cardiac mesenchymal stem cells contribute to scar formation after myocardial infarction. *Cardiovasc. Res.* 91: 99–107.
3. Chen, T. H.-P. et al. (2011) Knockdown of Hspa9, a del(5q31.2) gene, results in a decrease in hematopoietic progenitors in mice. *Blood* 117: 1530–1539
4. Gieseke, F. et al. (2010) Human multipotent mesenchymal stromal cells use galectin-1 to

inhibit immune effector cells. *Blood* 116: 3770–3779.

5. Shono, Y. et al. (2010) Bone marrow graft-versus-host disease: early destruction of hematopoietic niche after MHC-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 115: 5401–5411.
6. Yamashita, T. et al. (2010) Oncostatin M renders epithelial cell adhesion molecule–positive liver cancer stem cells sensitive to 5-fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. *Cancer Res.* 70: 4687–4697.
7. Song, J. et al. (2010) An in vivo model to study and manipulate the hematopoietic stem cell niche. *Blood* 115: 2592–2600.
8. Gutman, J.A. et al. (2010) Single-unit dominance after double-unit umbilical cord blood transplantation coincides with a specific CD8+ T cell response against the non-engrafted unit. *Blood* 115: 757–765.

神经科学应用:

1. Minami, S. et al. (2014) Progranulin protects against amyloid β deposition and toxicity in Alzheimer's disease mouse models. *Nat. Med.* 20: 1157–1164.
2. Fadul, C.E. et al. (2011) Immune modulation effects of concomitant temozolomide and radiation therapy on peripheral blood mononuclear cells in patients with glioblastoma multiforme. *Neuro. Oncol.* 13: 393–400.
3. Ferrandi, C. et al. (2011) Characterization of immune cell subsets during the active phase of multiple sclerosis reveals disease and c-Jun N-terminal kinase pathway biomarkers. *Mult. Scler.* 17: 43–56.

其他:

1. Kim, M.S. et al. (2014) A draft map of the human proteome. *Nature* 509: 575–581.
2. Zhao, L. et al. (2011) Integrated genome-wide chromatin occupancy and expression analyses identify key myeloid pro-differentiation transcription factors repressed by Myb. *Nucleic Acids Res.* 39: 4664–4679.

3. Tandon, P. et al. (2011) Requirement for ribosomal protein S6 kinase 1 to mediate glycolysis and apoptosis resistance induced by Pten deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108: 2361–2365.
4. Belzile, J-P. et al. (2010) HIV-1 Vpr induces the K48-linked polyubiquitination and proteasomal degradation of target cellular proteins to activate ATR and promote G2 arrest. *J. Virol.* 84: 3320 – 3330.
5. Jeong, S.M. et al. (2010) The SWI/SNF chromatin-remodeling complex modulates peripheral T cell activation and proliferation by controlling AP-1 expression. *J. Biol. Chem.* 285: 2340–2350.