

精準醫學

次世代定序 樣品前處理

ANCELL

元昕實業有限公司

☎ 02-2758-0076

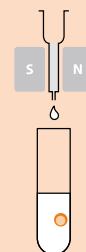
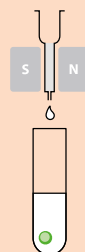
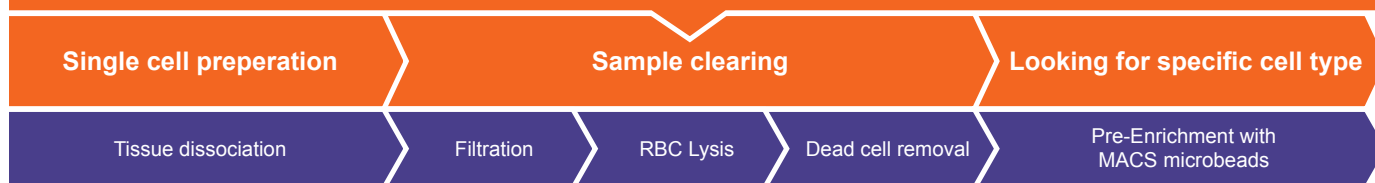
☎ 02-2758-9970



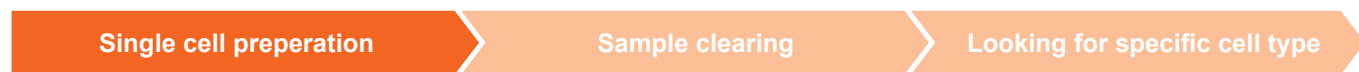
Miltenyi Biotec



組織樣品處理流程



更多 MACS 在 single cell 樣本前處理資訊
<https://youtu.be/usnBm2cjYpo>

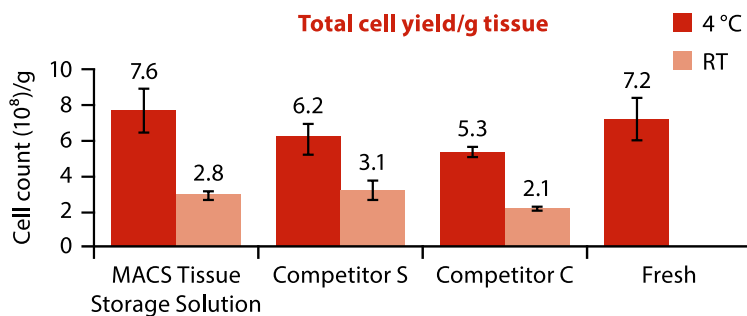


組織樣品保存最佳選擇 - 維持組織細胞存活率

MACS 組織保存液

需要從不同地點收集組織或一次需要收集多種動物樣品，無法即時做後續處理，一定要用 MACS 組織保存液！

- 優化配方適用於儲存新鮮器官和組織樣本在 4°C 狀態下，可長達 48 小時。
- 對細胞存活率沒有影響，不會活化細胞或誘導細胞凋亡。
- 在各種人和小鼠組織上進行測試和驗證，包括腫瘤、皮膚、心臟、脾臟、大腦和骨骼肌。



Cells per gram of tissue comparison between MACS Tissue Storage Solution and competitor products.

貨號	品項	包裝
130-100-008	MACS Tissue Storage Solution	100 mL

gentleMACS Dissociator

MACS 推出兩通道、八通道及帶加熱模組的八通道組織處理器三款設備，可以同時處理多個組織樣本，結合 MACS 專利的 C 管及各種組織解離試劑盒，幾乎可以處理所有類型的組織樣本，溫和、高效地解離實體組織樣本，得到高活力的單細胞懸液。



貨號	品項	規格
130-093-235	gentleMACS Dissociator	雙通道 半自動化
130-095-937	gentleMACS Octo Dissociator	八通道 半自動化
130-096-427	gentleMACS Octo Dissociator with Heaters	八通道帶加熱器 全自動化

gentleMACS™ C or M Tubes

- gentleMACS - C tube：使組織樣品解離成單顆細胞並維持細胞活性與表面結合位用於下游應用。
- gentleMACS - M Tube：使用於對樣品進行均質化分析或微生物分析，可以減少交叉污染，並在使用感染性材料時提高用戶安全性。



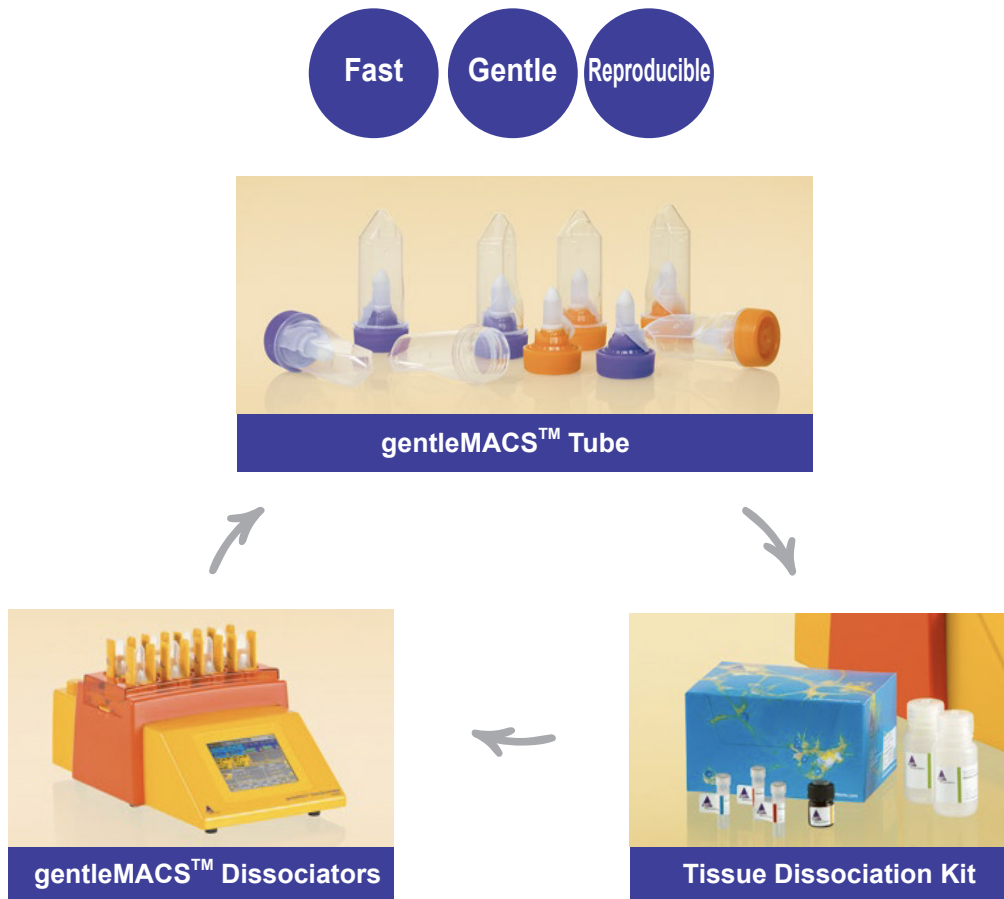
貨號	品項
130-093-237	gentleMACS C Tubes (25 ×), sterile, single packed
130-096-334	gentleMACS C Tubes (100 ×), sterile, 25 tubes per bag
130-093-236	gentleMACS M Tubes (25 ×), sterile, single packed
130-096-335	gentleMACS M Tubes (100 ×), sterile, 25 tubes per bag
130-094-392	gentleMACS M Tubes with Strainer (50 ×), 50 tubes per bag with 600µm mesh strainer

單細胞懸浮液製備 - 最佳化酵素配方

組織解離試劑組

各式組織解離試劑搭配 gentleMACS™ Dissociators，讓您快速獲得單細胞懸浮液。透過自動化機器進程序化的解離，大大提升單細胞懸浮液的細胞品質與實驗再現性。

gentleMACS™ Technology 完整的組織處理方案



熱門解離試劑組

貨號	品項
130-095-929	★ Tumor Dissociation Kit, human
130-096-730	★ Tumor Dissociation Kit, mouse
130-110-203	Multi Tissue Dissociation Kit 2
130-098-373	Neonatal Heart Dissociation Kit, mouse and rat
130-105-807	Liver Dissociation Kit, mouse
130-095-927	Lung Dissociation Kit, mouse
130-105-737	Umbilical Cord Dissociation Kit, human
130-095-926	Spleen Dissociation Kit, mouse
130-097-410	Lamina Propria Dissociation Kit, mouse
130-092-628	★ Neural Tissue Dissociation Kit (P)
130-098-305	Skeletal Muscle Dissociation kit, mouse and rat
130-101-540	Whole Skin Dissociation Kit, human

特別推薦

FFPE Tissue Dissociation Kit (石蠟包埋組織 FFPE kit)

快速溫和解離、保留重要 epitope

石蠟包埋後組織可長期保存，所保留的許多珍貴疾病樣本透過 NGS 可以提供更多資訊，讓研究人員去探討致病機轉找尋治療方案。傳統的手動石蠟包埋組織解離所產生的樣品常混有大量的血液細胞與正常細胞干擾後續的序列分析。

MACS FFPE Tissue Dissociation Kit 搭配 gentleMACS Dissociator with Heater

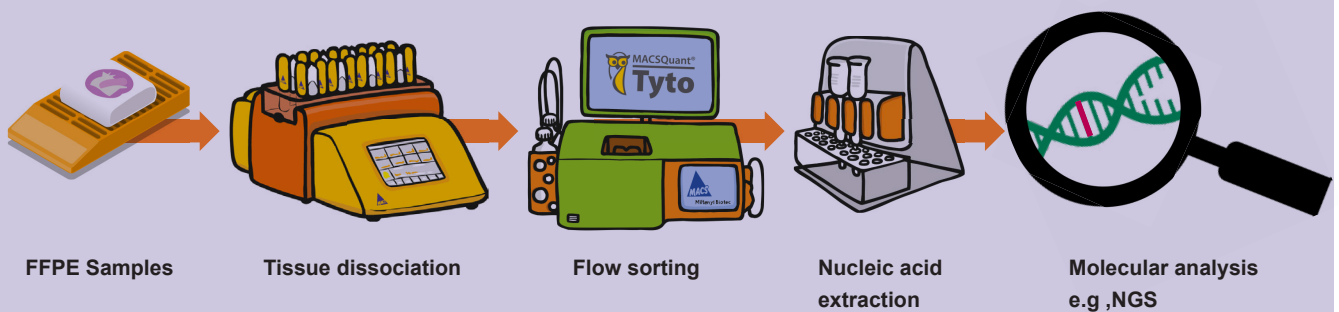
適用來自各種組織和物種的福馬林固定的石蠟包埋 (FFPE) 組織切片，例如人類腫瘤，皮膚或淋巴結樣品，可通過機械解離與酶結合將細胞外基質的降解，維持組織的結構完整性，進而解離成單細胞懸浮液。所取得的單細胞懸液能保留細胞骨架標記 (cytoskeletal markers) 例如：癌細胞表達之 cytokeatin 與非癌細胞表達之 vimentin，進一步經由流式細胞儀分選目標細胞提升 NGS 數據分析品質。

貨號	品項	包裝
130-118-052	FFPE Tissue Dissociation Kit	for 25 preparations

實例分享

MACS Academy :

Isolation of carcinoma cells from FFPE samples for high-quality sequencing results



實驗最佳小幫手

MACS SmartStrainers

巧妙的空氣流通設計，避免了濾液的外溢！

色彩絢麗

不同濾徑
可疊放15/50 ml
完美相容

去除團塊



30 µm



70 µm



100 µm

濾網尺寸	貨號	包裝	備註
30 µm (黃)	130-098-458	50 filters	單一顆無菌包裝
	130-110-915	4 x 25 filters	25 顆一袋無菌包裝
70 µm (紫)	130-098-462	50 filters	單一顆無菌包裝
	130-110-916	4 x 25 filters	25 顆一袋無菌包裝
100 µm (橘)	130-098-463	50 filters	單一顆無菌包裝
	130-110-917	4 x 25 filters	25 顆一袋無菌包裝

MACSmix Rotator

混懸器體積小巧，自帶充電電池，隨時隨地使用，混勻樣本最佳幫手

自帶充電電池：運行不依附電源插頭，能獨立的運行於各種環境中：既能使用在普通的實驗臺上，也能穿梭於冰箱與孵箱之間（2 – 42°C）！

- 使用靈活：配有不同的試管架，可放置不同規格的管子：0.5 – 50 mL。
- 轉速可調：機器自設三種旋轉速度，間隔時間亦可調，可以溫和、緩慢的旋轉，有利於脆弱樣本的混懸。



貨號	品項	規格
130-090-753	MACSmix Tube Rotator	Tube rack for tubes from 0.5 mL to 50 mL in size

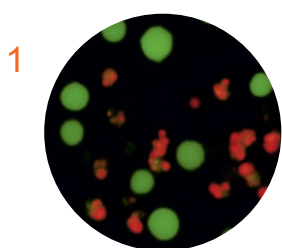
Dead Cell Removal kit

- 去除死細胞後提高樣品潔淨度
- 去除死細胞後提高靶細胞計數的準確性
- 去除死細胞後 Library 複雜性增加
- 去除死細胞後線粒體基因數量減少

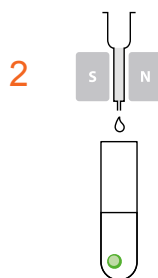
10x GENOMICS technical note 推薦使用  Dead Cell Removal kit

10x Genomics 據有獨家專利 GemCode™ 油滴微珠技術及分子標記技術，結合創新的自動化微流體傳遞分流系統，為最新單細胞基因表現圖譜分析利器。為協助客戶提升 library 品質，在官網的樣品前處理 protocol 中，推薦使用 MACS 的組織處理產品，並透過 technical note 指出移除死細胞的重要性。

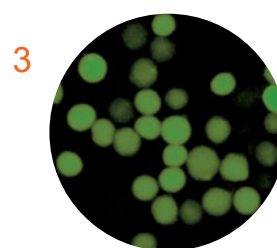
試劑操作流程



1 ready-to-use 磁珠直接與樣品反應



2 經過分選柱後，死細胞會被滯留在管柱內，流出的溶液為活細胞

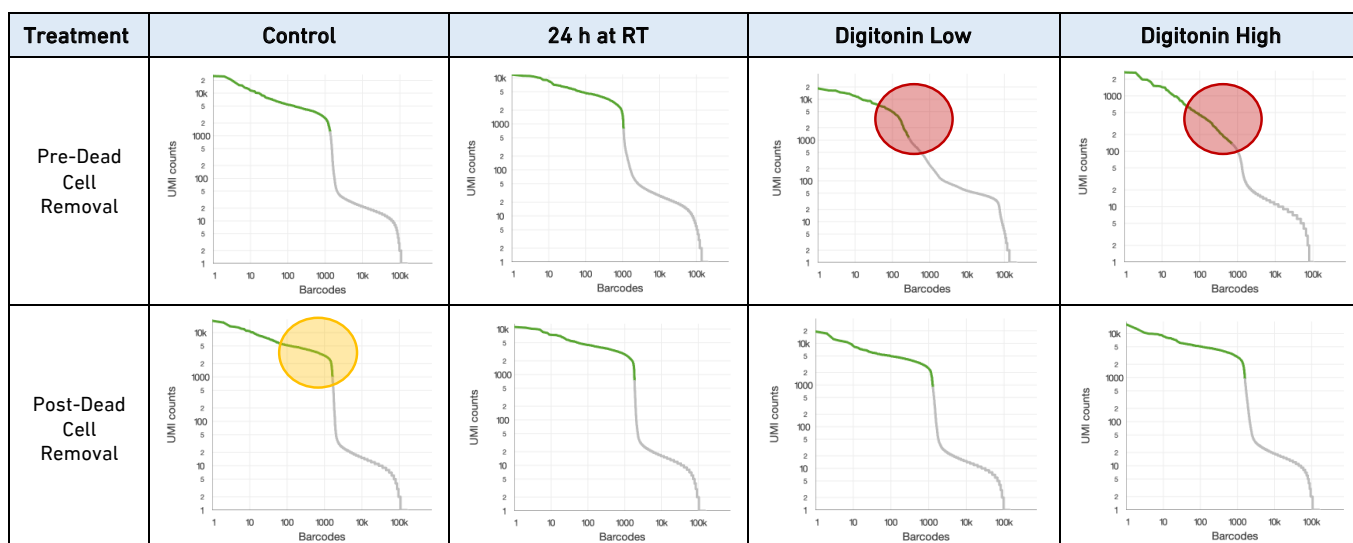


3 收集後的活細胞可直接做培養或後續分析

實驗結果

	Control	24 h at RT	Digitonin Low	Digitonin High
Pre Dead Cell Removal	85%	50%	50%	20%
Post Dead Cell Removal	85%	86%	85%	82%

Cell viability for each PBMC suspension assessed with Trypan Blue and the Countess II Automated Cell Counter after sample treatment and removal of dead cells with the Dead Cell Removal Protocol.



Barcode Rank Plot for 8 samples pre and post Dead Cell Removal treatment. Plotted is the distribution of barcode counts (x-axis) and the corresponding total UMI (Unique Molecular Identifier) counts (y-axis). Cell-containing partitions (barcodes on x-axis) are shown in green. Background partitions are shown in grey. Red circle indicates lack of steep drop-off. Yellow circle indicates one example of clear steep drop-off.

貨號	品項	包裝
130-090-101	MACS Dead Cell Removal Kit	for 1×10^9 totle cells

10x 官網推薦 : sample cleaning 四大天王 ~ 提升樣品清潔度

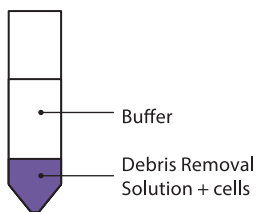
Red Blood Cell Lysis Solution (10x)

- 最佳配方對所有細胞的影響最小
- 適用於從外周血中獲得細胞以及各組織單細胞懸浮液去除紅血球
- 有 CE-IVD 規格可供選擇

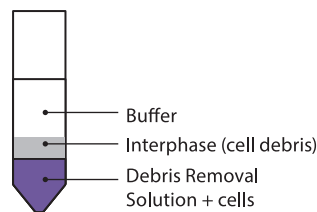
貨號	品項	包裝
130-094-183	Red Blood Cell Lysis Solution (10 ×)	50 mL
170-080-033	Red Blood Cell Lysis Solution (10 ×)	for 250 tests

Debris Removal Solution

- 即用型密度梯度試劑
- 在各種組織類型解離後，透過離心快速有效地從活細胞中去除細胞碎片



- Overlay with 4 mL buffer
- Centrifugation
10 min, 3000×g, 4 °C



- Remove buffer
- Remove interphase



- Add buffer to a final volume of 15 mL, invert gently
- Centrifugation
10 min, 1000×g, 4 °C

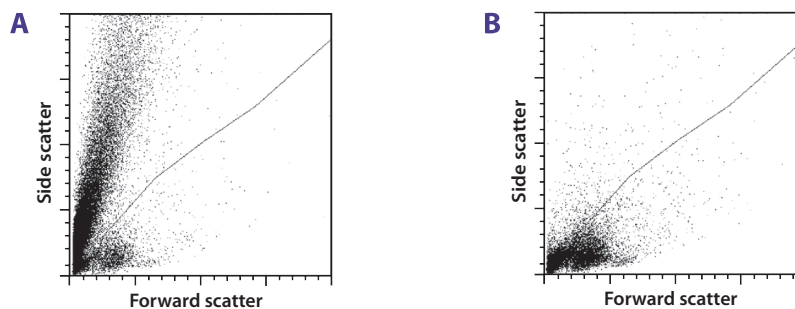


- Remove supernatant
- Resuspend cell pellet

貨號	品項	包裝
130-109-398	Debris Removal Solution	2 × 45 mL

Myelin Removal Beads II, human, mouse, rat

- 用於從單細胞懸浮液中特异性去除髓鞘碎片。
- 髓鞘去除珠 II 在不確定細胞數或髓鞘碎片 / 細胞比例的情況下即可作用。
- 當含有髓鞘的神經組織解離時，產生大量的髓鞘碎片，明顯損害抗體結合，去除單細胞懸浮液中髓鞘碎片可改善免疫染色和細胞分離結果。



Mouse brains (P28) were dissociated using the Neural Tissue Dissociation Kit (P). Flow cytometric analysis shows that the resulting single-cell suspension contains large amounts of myelin membrane fragments and other cellular debris. Only 3% of the signals represent cells (A). Myelin Removal Beads II used with an LS Column and a MidiMACS Separator effectively remove myelin debris (B).

貨號	品項	包裝
130-096-731	Myelin Removal Beads II, human, mouse, rat	200ul
130-096-733		4ml
130-096-433		2x4ml

一勞永逸！從異種移植腫瘤中獲取未標記的人類腫瘤細胞

Mouse cell depletion kit (MCD kit #130-104-694)

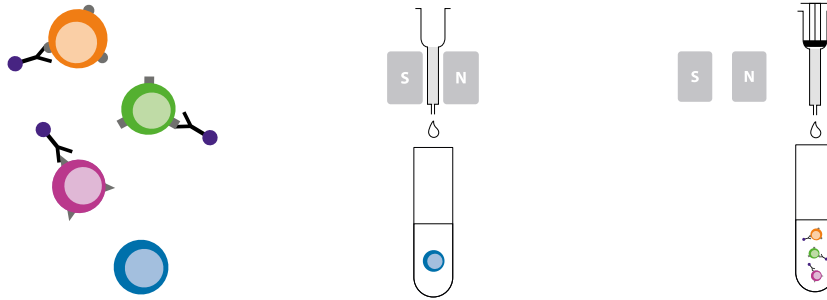
20 MIN
OK!

鼠源細胞
Bye!

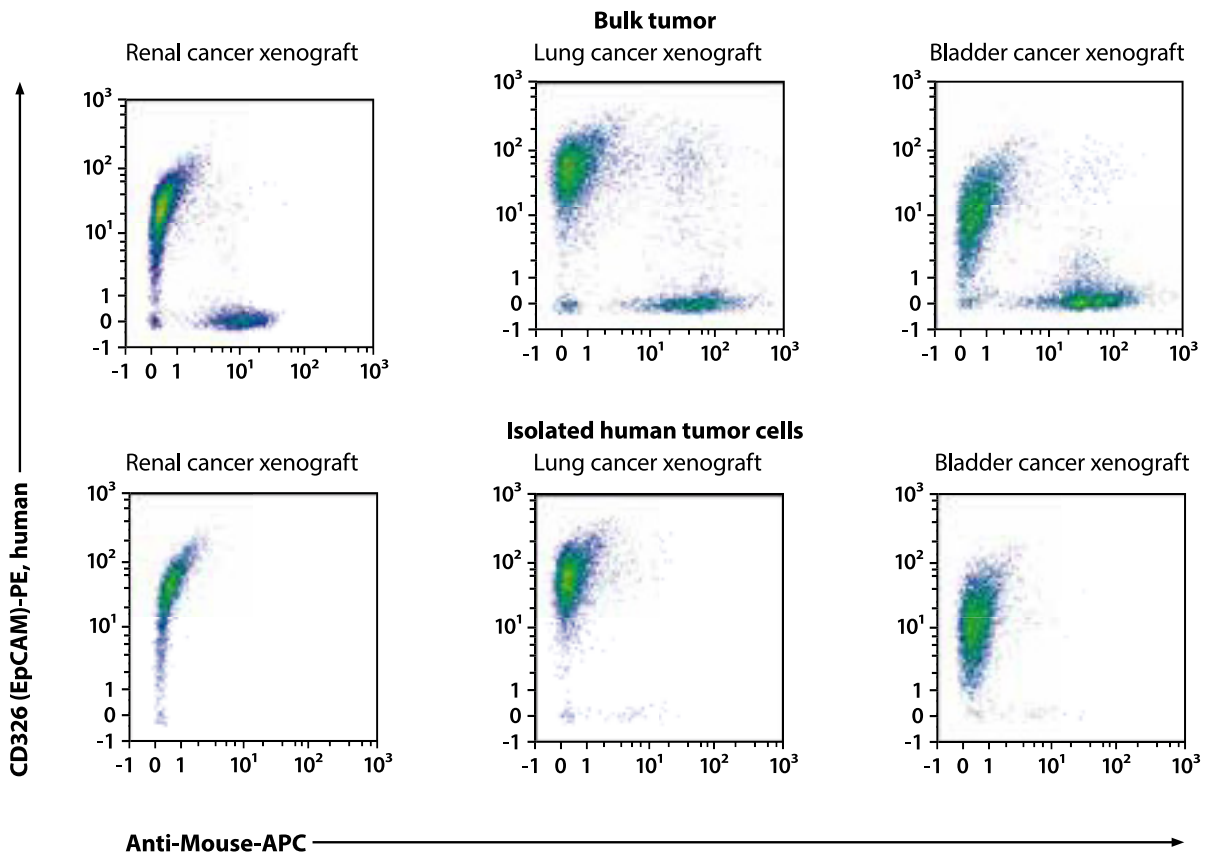
市面上唯一可以達到移植瘤中鼠源細胞去除目的的產品

利用經典的 MACS 磁性細胞分選技術，有效去除移植瘤中的鼠源細胞，能很大程度減少假陽或假陰結果。

磁珠分選流程



磁珠分選結果



用 gentleMACS 處理解離移植瘤樣本後（如腎臟、肺臟、膀胱），用 mouse cell depletion kit 進行鼠源細胞去除，流式檢測發現 99% 鼠源細胞已經被去除。

定序結果

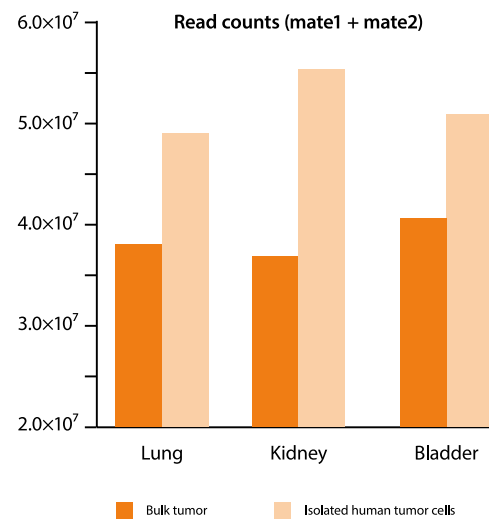
MCD kit 使用前後的數據比較結果



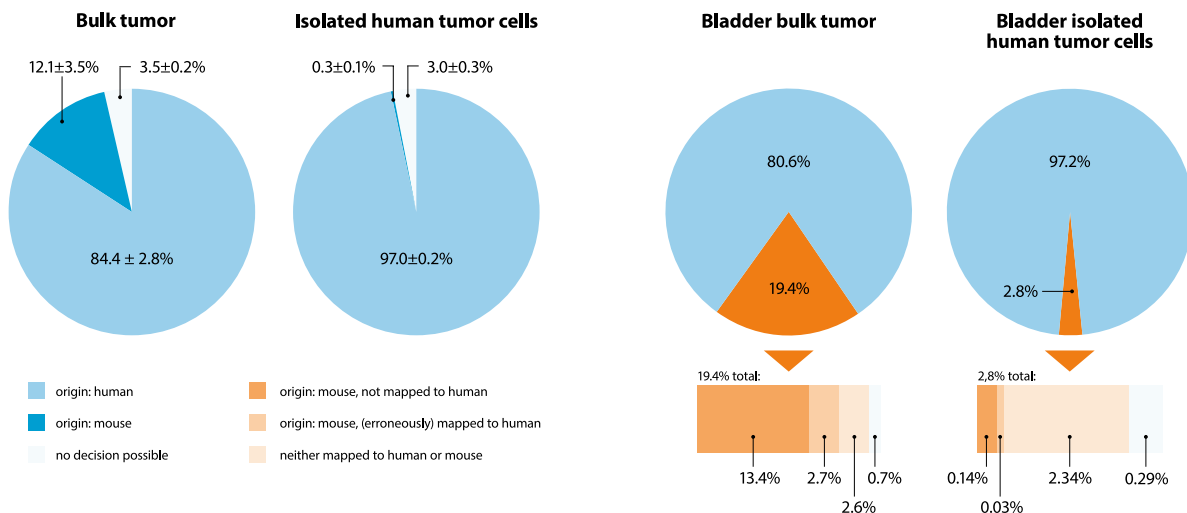
透過移除鼠源細胞能大幅提升下游數據分析品質

將原始移植瘤 DNA 和去除鼠源細胞的移植瘤 DNA 分別建立外顯子測序文庫，去除鼠源細胞的文庫簇密度值 (cluster density) 明顯升高，同樣的序列標籤讀數 (read counts) 也高出 33%，可見，移植瘤基因組測序前去除鼠源細胞是非常必要的 (如下圖)。

Xenograft	Description	Cluster density (K/mm ²)	Estimated yield (MB)
Kidney	Bulk tumor	777	2841.8
Kidney	Isolated human tumor cells	1179	4195.8
Lung	Bulk tumor	793	2904.4
Lung	Isolated human tumor cells	1020	3678
Bladder	Bulk tumor	843	3063.6
Bladder	Isolated human tumor cells	1075	3859.2



在剪切掉 adapter 後，將兩種樣本與人源和鼠源的基因組進行比對，移植瘤樣本中約 12% 的序列標籤與小鼠基因組吻合，平均有 15% 鼠源序列讀取與人類基因組產生假陽性；去除鼠源細胞後，與小鼠基因組吻合值降至 0.3%，同時出現假陽性值僅為 0.04%，可見，鼠源細胞污染對基因組測序影響之大 (如下圖)。



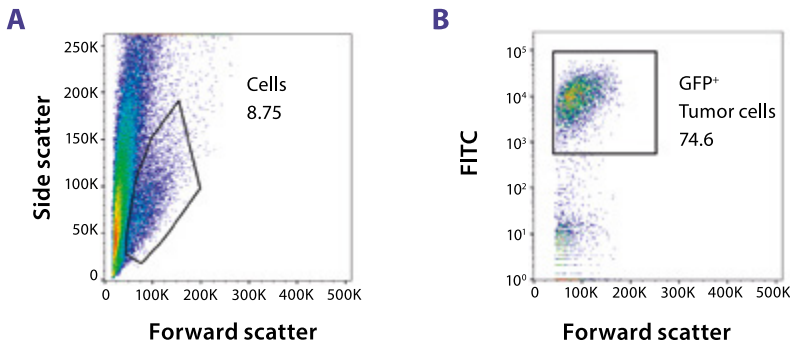
從 PDX mice 去除鼠源細胞取得腫瘤幹細胞

Mouse cell depletion from patient-derived xenograft brain tumors and isolation of glial cancer stem cells

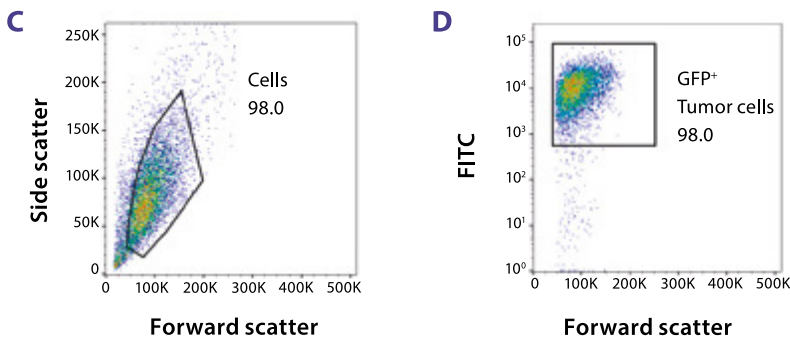
Jeremy Rich Lab, Cleveland Clinic, USA Tyler E. Miller, Stephen C. Mack, and Jeremy N. Rich

1. Tumor Dissociation Kit, human 結合帶加熱器的 gentleMACS Octo Dissociator 合適用於從來有原發性 GBM 的 PDX 組織中獲得單細胞懸浮液。
2. Mouse Cell Depletion Kit 有效去除 解離後的碎片與浸潤的小鼠細胞。
3. CD133 MicroBead Kit - 分離 CD133 和 CD133 + CSCs 繼續下游實驗。

Before mouse cell depletion



After mouse cell depletion

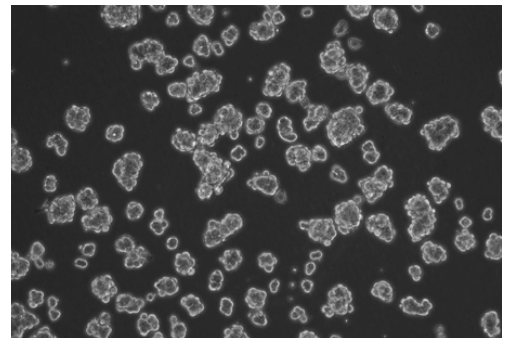


Flow analysis of dissociated PDX brain tumor samples before and after mouse cell depletion.

- (A) Before mouse cell depletion 9% of all events were gated as cells.
 (B) Of the events gated as cells, 25% were infiltrating mouse cells.
 (C) After mouse cell depletion, 98% of events were cells.
 (D) Human tumor cells were purified to 98%.

	Number of cells	Number of high quality aligned reads
Post dissociation	1.0×10^7	–
Post mouse cell depletion	2.7×10^6	–
CD133 ⁺	2.4×10^5	1.2×10^8
CD133 ⁻	2.2×10^6	6.0×10^7

Cell numbers of dissociated PDX brain tumor samples prior and after mouse cell removal and CD133⁺ and CD133⁻ cells after CD133 cell isolation were determined. RNAs of CD133⁺ and CD133⁻ cells were applied for sequence analysis. The numbers of the resulting aligned high-quality reads are displayed.



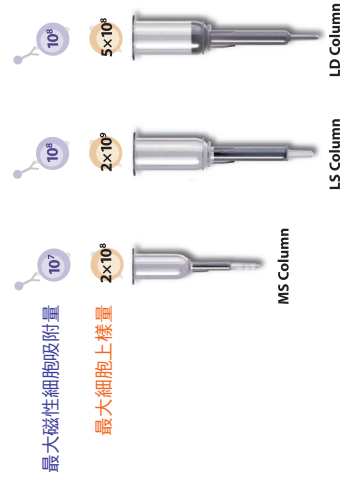
Cell cultures of CD133⁺ cells isolated from PDX brain tumor samples after prior removal of mouse cells. Cells shown were imaged after 3 passages.

實驗相關產品

貨號	品項	包裝
130-096-427	gentleMACS Octo Dissociator with Heater	八通道 可加熱
130-095-929	Tumor Dissociation Kit, human	for 25 preparations
130-098-462	MACS [®] SmartStrainers (70 μm)	50 filters (sterile, single-packed)
130-110-916		100 filters (sterile packed as 4x25 pieces)
130-093-570	MACS Neuro Medium	500 mL
130-093-566	MACS NeuroBrew-21	10 mL
130-104-694	Mouse Cell Depletion Kit	for up to 1×10^9 total cells
130-100-857	CD133 MicroBead Kit – Tumor Tissue, human	for up to 100 separation

starting kit : 含 Separator*1 / MultiStand *1 / columns 25 tubes / antibody*1

							
Ordering number	130-090-312	130-042-108	130-042-301	130-090-329	130-091-051	130-042-501	130-091-632
Product name (Starting Kit)	MiniMACS (MS)	OctoMACS (MS)	MidMACS (LS)	MidMACS (LD)	QuadroMACS (LS)	Mini & MidiMACS (MS, LS)	MACSxpress® Whole Blood
Separator	MiniMACS Separator (130-042-102)	OctoMACS Separator (130-042-109)	MidMACS Separator (130-042-302)	MidMACS Separator (130-042-302)	QuadroMACS Separator (130-090-976)	MiniMACS Separator (130-042-102) MidMACS Separator (130-042-302)	MACSxpress® Separator (130-098-308)
MACS MultiStand (130-042-303)	yes	yes	yes	yes	yes	yes	yes
MS columns 25 tubes (130-042-201)	yes	yes				yes	
LS columns 25 tubes (130-042-401)			yes		yes		
LD columns 25 tubes (130-042-901)				yes		yes	
Separation Reagent	One MACS Cell Separation Reagent of choice (includes only reagents with a capacity of up to 2×10^9 total cells) 任選 2×10^9 total cells 包裝磁珠						
other		OctoMACS Acrylic Tube Rack (130-090-448)			MACS 15 mL Tube Rack (130-091-052)	MACS 15 mL Tube Rack (130-091-052)	MACSmix™ Tube Rotator (130-090-753)



	capacity number of total cells	capacity number of labeled cells
MS columns (130-042-201)	2×10^8	1×10^7
LS columns (130-042-401)	2×10^9	1×10^8
LD columns (130-042-901)	5×10^8	1×10^8