

VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器

温和、高效的组织分解, 优化细胞活力和产量

VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器 (图 1A) 是将人和动物的实体组织和肿瘤样本分解成单个活细胞的设备。VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器采用温和的处理方法, 相对于原始样本, 始终保持较高的细胞活力、产量和细胞完整性。标准化的封闭系统提供了用于高通量组学研究 (基因组学、代谢组学等) 的自动处理过程, 在单细胞测序和流式细胞仪应用中提供了可靠的结果。

- 温和: 从影响较低的分解过程中优化了细胞活力和产量, 以便在组学和单细胞测序应用中获得最佳结果
- 标准化: 一致的流程、产出和产量减少了样本间的差异
- 自动化: 与传统方法相比, 组织解离过程更简单, 成分和步骤更少
- 快速: 实体组织在短短十分钟内变成单细胞悬液

分解后, 可以使用 VIA Freeze™ Uno 控速降温仪通过可定制化的温控模式来保存细胞, 以保持其活力, 用于进一步的下游应用。

新鲜组织或肿瘤样本在 Omics 样本袋 (带条形码的多室一次性袋) 中处理。使用 Omics 注射器协助进样。将样本袋放入 Omics 卡箍中稳定样本放置, 然后将样本袋热封以进一步防止污染。使用注射器通过样本袋另一端的端口将消化酶溶液轻松添加到 Omics 样本袋中。将 Omics 样本袋和卡箍小心地放入 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器中 (图 1B)。将 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器放入 VIA Freeze™ Uno 控速降温仪的顶部 (图 1C), 并选择组织分解实验方案。VIA Freeze™ Uno 控速降温仪提供了灵活性, 允许根据样本类型和大小选择最佳速度、温度和时间设置, 以最大限度地提高细胞活力。VIA Freeze™ Uno 控速降温仪的加热系统用于控制温度。VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器的温和机械裂解, 制备了与原始样本一致的活细胞悬浮液。

(A)



(B)



(C)



图 1. (A) VIA Extractor™ 组织处理器, (B) Omics 样本袋放入 Omics 卡箍中再放入 VIA Extractor™ 组织处理器, 以及 (C) 将 VIA Extractor™ 组织处理器放入 VIA Freeze™ Uno 控速降温仪的顶部。

以下的数据是为了证明 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器将生物组织分解成活细胞悬浮液的有效性, 该细胞悬浮液适用于多种下游应用, 包括肿瘤生长、流式细胞术以及单细胞测序和分析等。VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器与 gentleMACS™ 组织处理器以及一种常见的手动组织解离平行测试, 根据标准实验方案处理一些常见的组织样本, 以评估产生的活细胞悬浮液的相对性能。

*仅供研究使用 (RUO)。不用于诊断。

VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器与 gentleMACS™ 的性能对比

将 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器在小鼠肝、肺、肾和脑组织分解中的性能与使用 gentleMACS™ 全自动处理器进行比较。与 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器使用样本袋的温和裂解相比，gentleMACS™ 方法包括将组织样本放入具有专门设计的定子和转子的样本管中，该样本管通过短暂的机械裂解并结合酶混合物处理组织样本(图 2)。根据制造商的说明使用了 gentleMACS™。为了确保可以直接比较两种仪器的性能，两种仪器均使用 Miltenyi Biotec 推荐的酶反应液。新鲜解剖的野生型小鼠组织从 CharlesRiver 实验室获得。使用三个生物学重复样本进行实验，使用两种仪器处理每个单独的样本，允许样本配对和同类比较。处理两种不同大小的组织，以比较标准大小的器官和活检大小的组织样本的组织分解效率，这在组织来自临床样本的情况下很常见。组织分解后，所有细胞悬浮液通过适当大小的细胞过滤器过滤，以 300xg 离心沉淀，并使用红细胞裂解溶液进行红细胞裂解。细胞再悬浮后，使用 NucleoCounter™ NC-200™ 自动细胞计数器对细胞进行计数。

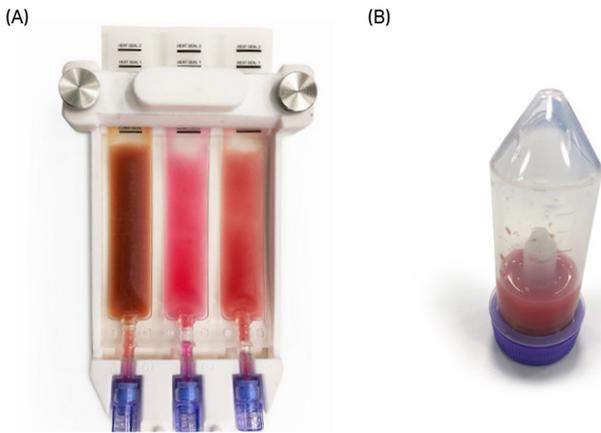


图 2. VIA Extractor™ 组织处理器和 gentleMACS™。(A) VIA Extractor™ 组织处理器对一次性样品袋(可分开使用)内的组织进行轻柔按摩，将组织分解成单个细胞。单个实验显示了三个不同的组织样本。(B) gentleMACS™ 系统使用转子在酶孵育后物理混合样本。

小鼠肝脏分解

将小鼠肝组织与来自肝解离试剂盒的酶一起装入样本袋中，并使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器以 200 rpm 的恒定速度在 37°C 下作用 10 分钟。过滤后细胞过滤器中无肉眼可见的组织块证明了这一点(图 3)。按照制造商的说明，使用 gentleMACS™ 分离小鼠肝组织。简而言之，将肝组织与酶混合物一起添加到 C 管中。将试管放在 gentleMACS™ 上，运行规定的程序(约 37 秒)，然后将样本在 MACS mix™ 管旋转器(Miltenyi Biotec)上以 37°C 的温度孵育 30 分钟。然后将样本管放在 gentleMACS™ 上，运行第二个定义的程序，生成最终的细胞悬浮液。

通过细胞过滤器进行细胞过滤后，很明显，与 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器相比，使用 gentleMACS™ 时，更大比例的组织仍未分解(图 3)。使用这两种仪器，每毫克组织的细胞活力和细胞产量相似(图 4A 和 4B)。NucleoCounter™ 细胞计数器得到的代表性图像显示了使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器能得到更完整单细胞悬浮液(图 4C)。细胞大小直方图显示，使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器时，在所需的细胞大小上，细胞数量峰值更高，细胞碎片更少(图 4D)。

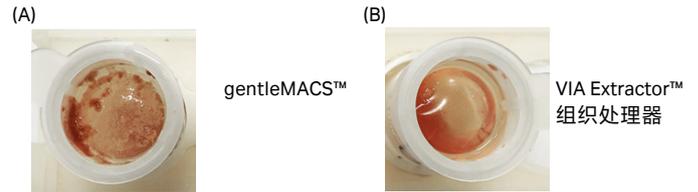


图 3. 使用 (A) gentleMACS™ 或 (B) VIA Extractor™ 组织处理器解离的小鼠肝组织和通过 100 μm 细胞过滤器过滤制备的细胞悬浮液。VIA Extractor™ 组织处理器显示更完全的消化，因为表面残留的组织碎片更少。

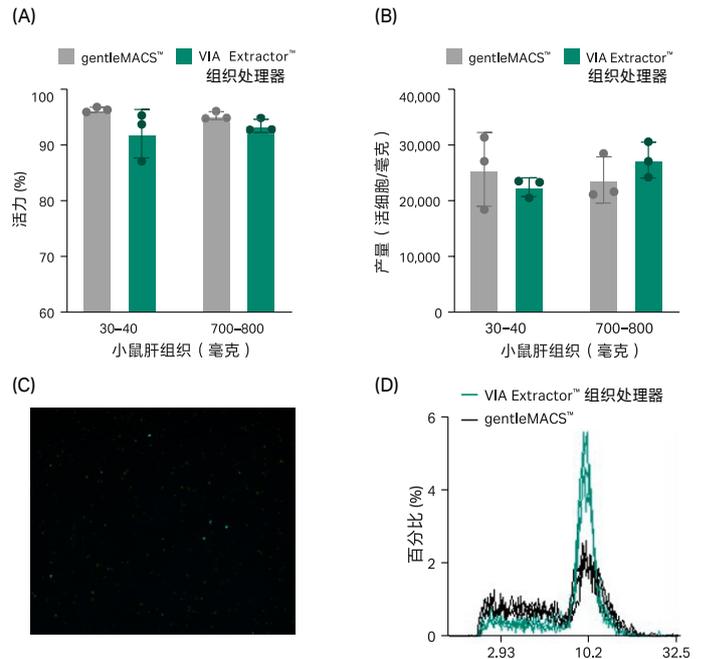


图 4. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器和 gentleMACS™ 分离小的和大的小鼠肝脏组织。对样本进行匹配，以便在两种仪器中使用来自同一肝脏的组织。使用 NucleoCounter™ NC-200™ 对红细胞裂解后的肝组织中的细胞进行计数。(A) 平均细胞活力百分比。(B) 投入每毫克组织进行解离后活细胞的平均产量。(C) 来自 NucleoCounter™ NC-200™ (Chemometec) 的计数细胞的代表性图像。(D) 直方图显示了全部的三个 700-800 毫克样本的每个细胞直径的细胞分布。

该数据基于至少三个独立实验和/或重复试验，每个实验中重复次数相同。根据制造商的使用说明和建议，对所有测试样本进行同等处理(对比中所有测试产品的重复次数相同)。数据于 2020 年 6 月和 7 月在 Cytiva, Sovereign House, Chivers Way, Histon, Cambridge CB24 9BZ (R&D Laboratory) 收集，并保存在该地点。

小鼠肺分解

将小鼠肺组织与来自肺解离试剂盒的酶一起放入样本袋中，并使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器以 200 rpm 的恒定速度在 37°C 下分解 35 分钟。按照制造商的说明，使用 gentleMACS™ 分离来自同一样本的组织。通过细胞过滤器进行细胞过滤后，很明显，与 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器相比，使用 gentleMACS™ 时，更大比例的组织仍未分解（图 5）。

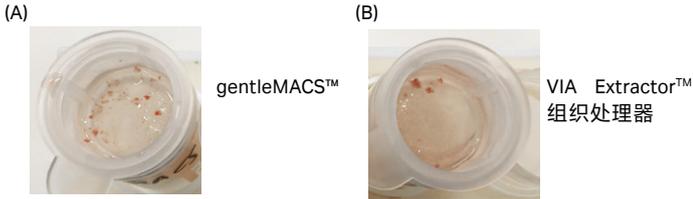


图 5. 使用 (A) gentleMACS™ 或 (B) VIA Extractor™ 组织处理器解离的小鼠肺部组织和通过 70 μm 细胞过滤器过滤制备的细胞悬浮液。VIA Extractor™ 组织处理器显示更完全的消化，因为表面残留的组织碎片更少。

使用 gentleMACS™ 分离活检大小的肺组织时，细胞存活率会发生变化，但是使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器时，细胞存活率始终在 80% 以上。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器时，110–160 mg 之间的肺组织存活率明显更高（图 6A）。与 gentleMACS™ 相比，使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器的活细胞产量更高（图 6B）。细胞计数器的代表性图像显示了使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器的细胞悬浮液（图 6C）。细胞大小直方图显示了使用两种仪器提取的细胞直径分布情况（图 6D）。

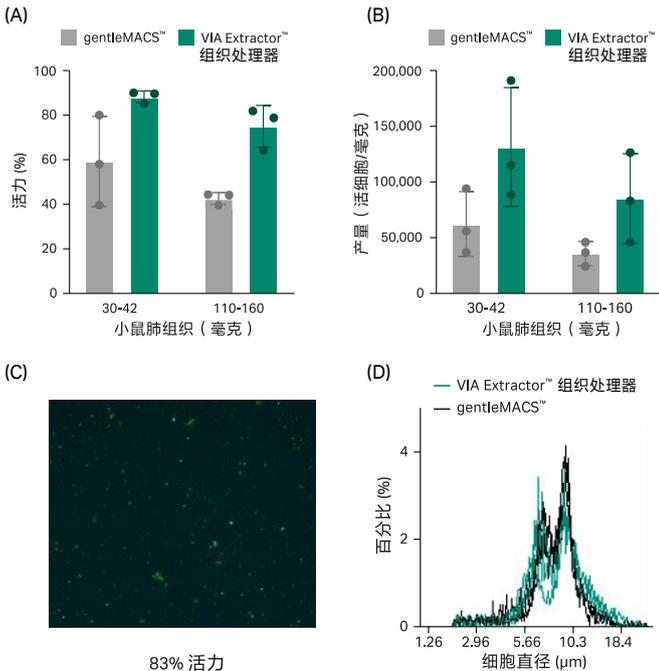


图 6. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器和 gentleMACS™ 分离小的和大的小鼠肺组织。对样本进行匹配，以便在两种仪器中使用来自同一小鼠的组织。使用 NucleoCounter™ NC-200™ 对红细胞裂解后的肝组织中的细胞进行计数。(A) 平均细胞活力百分比。(B) 每毫克组织进行解离后活细胞的平均产量。(C) 来自 NucleoCounter™ NC-200™ 的计数细胞的代表性图像。(D) 直方图显示了所有三个 110–160 毫克样本的每个细胞直径的细胞分布。

小鼠肾脏分解

对于小鼠肾脏解离，根据多组织解离试剂盒 2，并根据 Miltenyi Biotec 的实验方案使用。VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器和 gentleMACS™ 的整体实验方案与小鼠肝脏的实验方案相似。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器（总分解时间 10 分钟）比使用 gentleMACS™（总分解时间 32 分钟）更快。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器将肾脏组织分解成完整的细胞悬浮液；然而，在使用 gentleMACS™ 后，细胞过滤器中仍残留可见的组织碎片（图 7）。

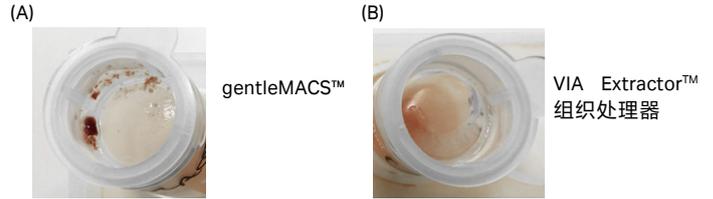


图 7. 使用 (A) gentleMACS™ 或 (B) VIA Extractor™ 组织处理器解离的小鼠肾脏组织和通过 70 μm 细胞过滤器过滤制备的细胞悬浮液。VIA Extractor™ 组织处理器显示更完全的消化，因为表面残留的组织碎片更少。

与 gentleMACS™ 相比，当使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器时，产生的细胞存活率同样很高（图 8A），但是对于两种组织大小，使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器时的活细胞产量更高（图 8B）。细胞计数器的代表性图像显示了使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器的细胞悬浮液（图 8C）。细胞大小直方图显示，使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器时，在所需的细胞大小上，细胞数量峰值更高，表明解离效果更好（图 8D）。

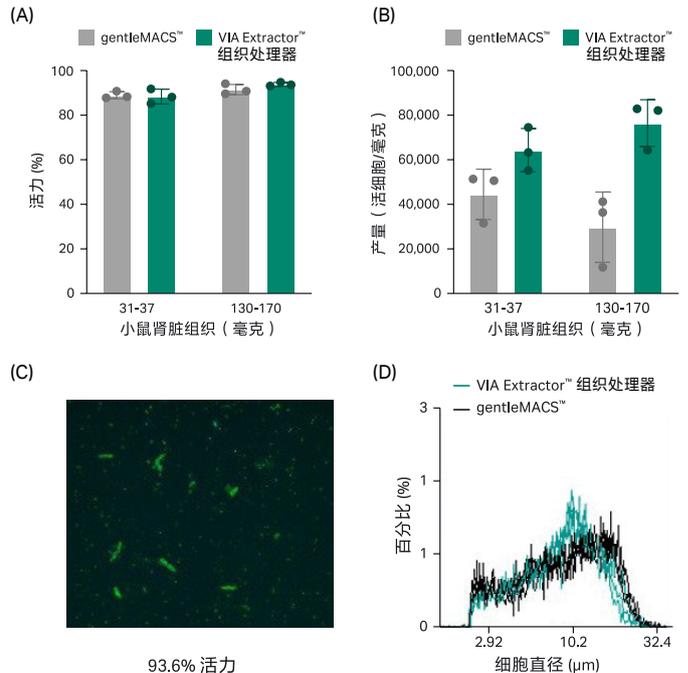


图 8. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器和 gentleMACS™ 分离小的和大的小鼠肾脏组织。对样本进行匹配，以便在两种仪器中使用来自同一小鼠的组织。红细胞裂解后，使用 NucleoCounter™ NC-200™ 对细胞进行计数。(A) 平均细胞活力百分比。(B) 每毫克组织进行解离后活细胞的平均产量。(C) 来自 NucleoCounter™ NC-200™ 的计数细胞的代表性图像。(D) 直方图显示了所有三个 130–170 毫克样本的每个细胞直径的细胞分布。

VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器 与手动组织解离的性能对比

传统方法使用剪刀和解剖刀将组织切割成小块 (2-4 毫米), 然后在酶混合物中长时间孵育以获得细胞, 将实体生物组织解离成单细胞悬浮液。这种技术耗时耗力, 重现性差。使用三个独立的小鼠器官比较组织处理效率, 每种技术使用一半的材料。组织解离后, 所有细胞悬浮液通过适当大小的细胞过滤器过滤, 以 300 xg 离心沉淀, 并使用红细胞裂解溶液进行红细胞裂解。细胞再悬浮后, 使用 NucleoCounter™ NC-200™ 自动细胞计数器对细胞进行计数。

小鼠肝脏分解

对于手动分解, 使用手术刀和剪刀将小鼠肝组织 (400-500 毫克) 切碎, 洗涤, 并在 37°C 下用 0.1% 胶原酶 A1 振荡孵育 1 小时。为了进行比较, 将小鼠肝脏组织 (400-500 毫克) 放入含有 0.1% 胶原酶 A 的 Omics 样本袋中, 并在 37°C 下以 200 rpm 的速度运行 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器 10 分钟分解组织。手动组织分解后细胞过滤器中的残留组织表明该过程效率较低, 而使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器可以在很短的时间内获得完整的细胞悬浮液 (图 9A)。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器, 细胞的存活率更高, 活细胞的产量也更高 (图 9B 和 9C)。与手工分解相比, VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器能得到更多所需直径大小的细胞和更少的小颗粒, 表明样本更纯净, 细胞损伤更小 (图 9D)。

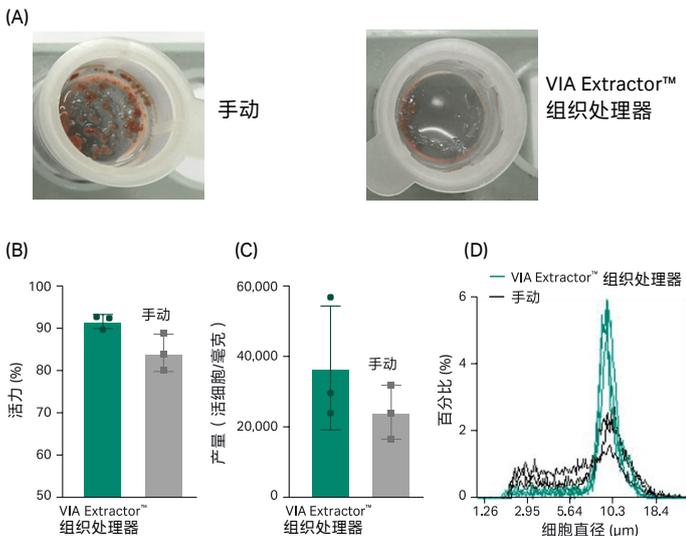


图 9. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器或如上所述的传统手工方法将三个独立的野生型小鼠肝脏分成两半并分离, 通过 70µm 细胞过滤器过滤制备细胞悬浮液。(A) VIA Extractor™ 组织处理器显示更完全的消化, 因为表面残留的组织碎片更少。图 B、C 和 D 显示了来自自动细胞计数器的数据。(B) 平均细胞活力百分比。(C) 每毫克组织进行解离后活细胞的平均产量。圆点表示单个值。条形图显示三个样本的平均值。误差条显示标准偏差。(D) 显示每个样本的单个细胞直径的直方图。可以看出, VIA Extractor™ 组织处理器方法产生的碎片较少, 如 8 µm 以下组织碎片的较低信号所示。

小鼠肺分解

对于手动分解, 使用手术刀和剪刀将小鼠肺组织 (100-140 毫克) 切碎, 洗涤, 并在 37°C 下用 0.3% 胶原酶 IV 振荡孵育 45 分钟。为了进行比较, 将小鼠肺组织 (100-140 毫克) 放入含有 0.3% 胶原酶 IV 的 Omics 样本袋中, 并在 37°C 下以 200 rpm 的速度运行 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器 35 分钟, 对其进行分解。当使用手动分解时, 肺组织没有完全解离成单细胞悬浮液, 如细胞过滤器中的残留物所示 (图 10A)。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器, 细胞活力和产量更好 (图 10B 和 10C)。与 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器相比, 手动过程分解时直径小的组织碎片更多, 这表明 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器是一个更温和的过程, 产生的碎片更少 (图 10D)。

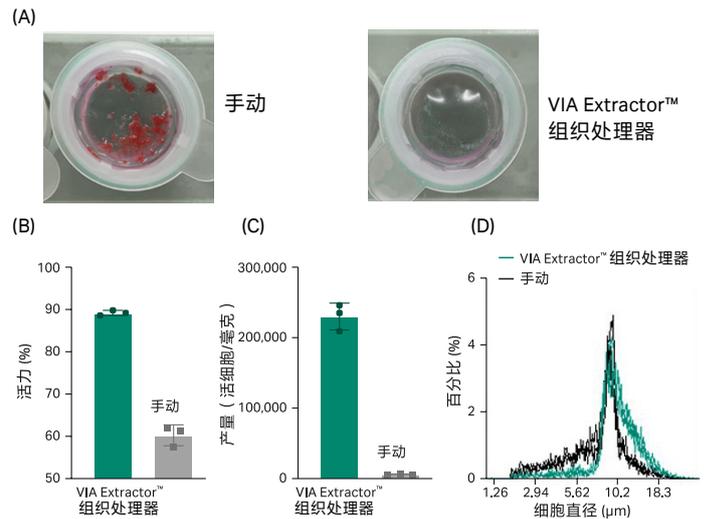


图 10. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器或使用手术刀片和剪刀的传统切碎 (手动) 将三个独立的野生型小鼠肺分成两半并分离。通过 70 µm 细胞过滤器过滤制备细胞悬浮液。(A) VIA Extractor™ 组织处理器显示更完全的消化, 因为表面残留的组织碎片更少。图 B、C 和 D 显示了来自自动细胞计数器的数据。(B) 平均细胞活力百分比。(C) 投入组织进行解离后每毫克样本活细胞的平均产量。圆点表示单个值。条形图显示三个样本的平均值。误差条显示标准偏差。(D) 显示每个样本的单个细胞直径的直方图。可以看出, VIA Extractor™ 组织处理器方法产生的碎片较少, 因为 8 µm 以下组织碎片的信号较低。

小鼠肾脏分解

使用手术刀和剪刀将小鼠肾脏组织 (240-300 毫克) 切碎, 洗涤, 并在 37°C 下用 0.1% 胶原酶 IV 振荡孵育 30 分钟。将相似的样品放入含有 0.1% 胶原酶 IV 的 Omics 样本袋中, 并在 37°C 下以 200 rpm 运行 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器 10 分钟进行分解。手动分解的细胞过滤后, 细胞过滤器中的残留组织表明组织分解不完全 (图 11A)。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器, 细胞活力和产量更高 (图 11B 和 11C)。对于该组织, 两种方法得到的直径较小的细胞数量相似 (图 11D)。

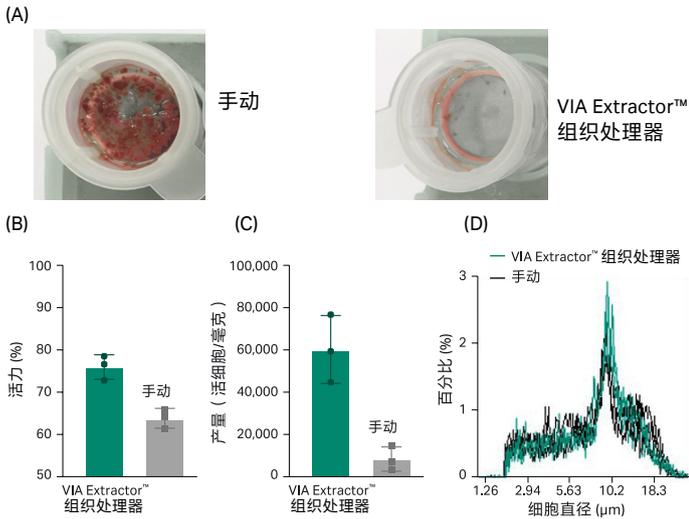


图 11. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器或使用手术刀片和剪刀的传统切碎 (手动) 解离三个独立的野生型小鼠肾脏对。通过 70 μm 细胞过滤器过滤制备细胞悬浮液。(A) VIA Extractor™ 组织处理器显示更完全的消化, 因为表面残留的组织碎片更少。图 B、C 和 D 显示了来自自动细胞计数器的数据。(B) 平均细胞活力百分比。(C) 投入组织进行解离后每毫克样本活细胞的平均产量。圆点表示单个值。条形图显示三个样本的平均值。误差条显示标准偏差。(D) 直方图显示了每个样本的单个细胞直径。

该数据基于至少三个独立实验和/或重复试验, 每个实验中重复次数相同。根据制造商的协议和建议, 对所有测试样本进行同等处理 (对比中所有测试产品的重复次数相同)。数据于 2020 年 6 月和 7 月在 Cytiva, Sovereign House, Chivers Way, Histon, Cambridge CB24 9BZ (R&D Laboratory) 收集, 并保存在该地点。

选择难裂解组织的分离方法—示例: 小鼠大脑

脑组织是一种高度敏感的组织, 分离后很难从中获得活细胞。为了使这种分解技术标准化, 以便在流式细胞仪和单细胞测序等下游应用中获得最佳结果, 对组织分离的自动化机械分离结合酶消化法进行了比较。

为了分离小鼠大脑 (下丘脑), 解剖了 5 只 C57BL6 小鼠, 并仔细分离下丘脑。这些组织被保存在冰冷的缓冲液中并在冰上, 以保持细胞活力。对这些样本进行称重和合并。使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器方法解离样本 (表 1)。使用成人脑解离试剂盒, 并根据制造商的实验方案制备酶混合物。

下丘脑样本在 Omics 注射器的帮助下装入 Omics 样本袋。使用鲁尔锁注射器将来自成人脑解离试剂盒的酶混合物添加到样本袋中, 并使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器以 200 rpm 的恒定速度在 37°C 下解离五分钟 (图 12A 和 12B)。在这段时间内获得了完整的细胞悬浮液, 过滤后细胞过滤器中没有可见的组织块证明了这一点 (图 12C)。

表 1. 使用的组织量以及用于解离的其他参数

小鼠	VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器
下丘脑	56.1 mg 样本 1
下丘脑	105.8 mg 样本 2
酶混合物	2 mL gentleMACS™ 酶
提取器转速 (RPM)	200
完成消化的时间 (分钟)	5
温度	37°C

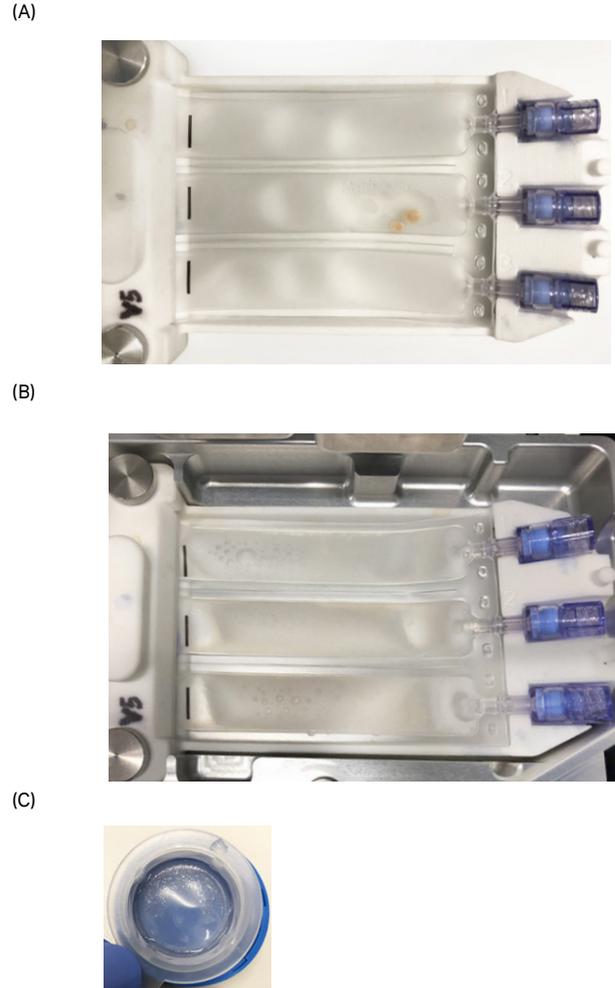


图 12. 使用 VIA Extractor™ 组织处理器解离小鼠大脑组织。解剖 C57BL6 小鼠, 将下丘脑与其他脑组织分离。将来自对照的样本合并, 以获得足够的细胞分离材料。(A) 组织分解前 Omics 样本袋和 Omics 卡箍的组装。(B) 组织分解后的组装。(C) 然后将细胞通过预湿的 70 μm 细胞过滤器, 过滤掉任何未消化的组织碎片。请注意, 下丘脑样本与其他脑样本一起分离, 数据未包含在此处。

使用 TC20™ 细胞计数器进行细胞计数, 同时使用血细胞计数器进行手动计数。使用两种仪器计算的每个样本的细胞活力和细胞产量如表 2 所示。

表 2. 细胞活力和产量。使用自动 TC20™ 细胞计数器对细胞进行计数，并与血细胞计数器手动计数进行比较。将台盼蓝与细胞悬浮液以 1:1 的浓度混合，在每种方法中使用 10 µL 样本来计数活细胞。使用 VIA Extractor™ 组织处理器获得细胞

样本	描述	总计数 细胞/mL	实时计数		血细胞计数器 计数细胞/mL
			Bio-Rad TC20™ 细胞/mL	活力 % Bio-Rad TC20™ 细胞/mL	
1	VIA Extractor™ 组织处理器 Hypo	1.83 × 10 ⁷	1.37 × 10 ⁷	75%	1.28 × 10 ⁷
2	VIA Extractor™ 组织处理器 Hypo	1.59 × 10 ⁷	1.10 × 10 ⁷	70%	1.59 × 10 ⁷

当研究源自脑组织的细胞中的生物途径或转录组时，细胞活力极其重要：因此，理想的方法是较低影响分离步骤并最大限度地保存细胞活性。从该实验中可以明显看出，对于大脑中这样的敏感细胞，使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器对脑组织进行分解可提供持续的高产量，并显著提高活细胞的百分比。此外，解离在很短的时间内完成。

该数据基于两个独立实验和/或重复试验，每个实验中重复次数相同。根据制造商的协议和建议，所有测试样本均得到同等处理。数据于 2020 年 8 月在东安格利亚大学诺威奇研究园诺威奇 NR4 7TJ (研发实验室) 收集，并在该地点保存。

结论

使用 VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器进行实体组织分解是一种简单有效的技术，可以得到活细胞悬浮液用于下游分析。温和的组织按摩的低冲击性，保持了细胞处于最佳的状态。所描述的数据显示，与其他方法相比，VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器能够得到更高的单细胞产量和活力百分比，并且细胞碎片更少。由于分解仅需 10 分钟，VIA Extractor™ 温控型高效能组织处理器可提供所需的速度，以最大限度地减少任何因处理过程中的压力可能对下游分析的干扰。

订购信息

产品	包装量	产品代码
Omics 打包装组合 (VIA Freeze™ Uno 控速降温仪、 VIA Extractor™ 组织处理器和 Omics 卡箍)	每个产品各 1 个	29517120
Omics 卡箍	1	29509355
Omics 样本袋, 3 样本	一包 10 个	29509336
Omics 注射器	一包 60 个	29509359

相关产品	包装量	产品代码
GenomiPhi™ 单细胞 DNA 扩增试剂盒	100 次反应	29108039
	25 次反应	29108107
	5 mL	29343045
Sera-Mag™ Select 和 PCR 纯化试剂	60 mL	29343052
	450 mL	29343057
Sera-Mag™ Oligo (dT) 磁珠	1 mL	38152103011150
	5 mL	38152103010150
	100 mL	38152103010350

cytiva.com.cn

有关当地办事处的联系信息，请访问 cytiva.com.cn/contact。

Cytiva 和 Drop 标志是 Global Life Sciences IP Holdco LLC 或其附属公司的商标。GemomiPhi, Sera-Mag, VIA Extractor 和 VIA Freeze 是 Global Life Sciences Solutions USA LLC 或作为 Cytiva 开展业务的附属公司的商标。

gentleMACS 和 MACSmix 是 Miltenyi Biotech 的商标。NucleoCounter 和 NC-200 是 Chemometec 的商标。TC20 是 BioRad 的商标。

© 2022 Cytiva

所有商品和服务的销售均应遵守 Cytiva 业务范围内的供应公司的销售条款和条件。如有要求，可提供这些条款和条件的副本。有关最新信息，请联系您当地的 Cytiva 代表。