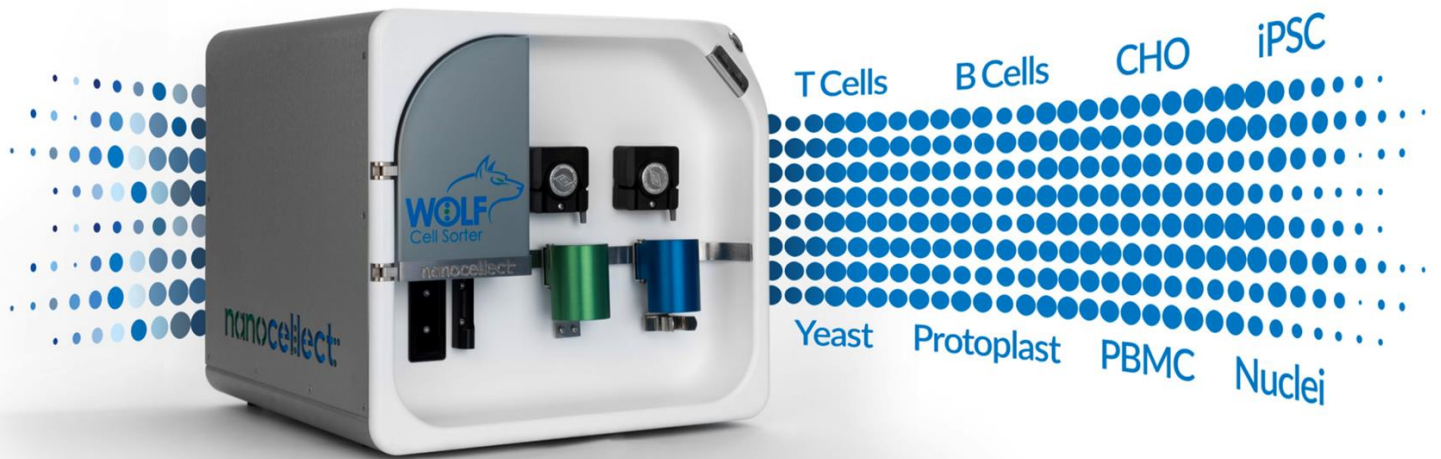


WOLF 细胞分选仪



轻奢、简约、畅爽、灵动

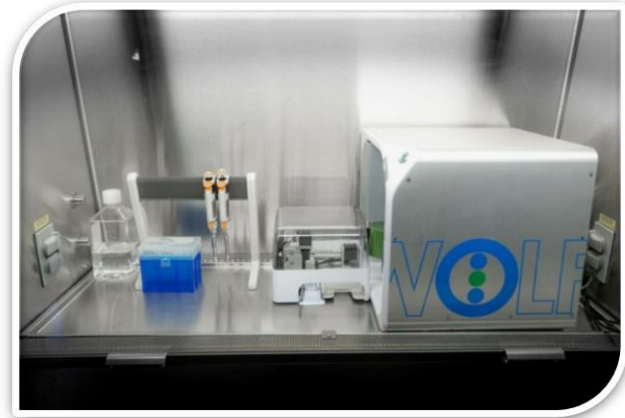
流式分选再定义

WOLF 柔性细胞分选仪特点



WOLF 分选 - 实验保证无菌

- ✓ 内置于生物安全柜，环境无菌
- ✓ 无气溶胶生成，免除病毒污染
- ✓ 可抛弃式无菌微流控分选芯片，无菌管路，无菌细胞点样针头，无鞘液罐
- ✓ 无污染分选大肠杆菌，酵母



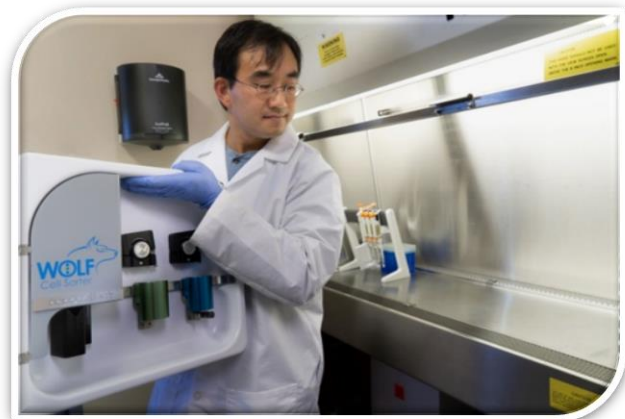
WOLF 分选 - 空间就该省占

- ✓ 尺寸39厘米×36厘米×38厘米，20千克
- ✓ 内置于生物安全柜，仍存大部分空间供实验员操作。亦可无菌实验室内，普通实验桌面操作



WOLF 分选 - 过程这么简单

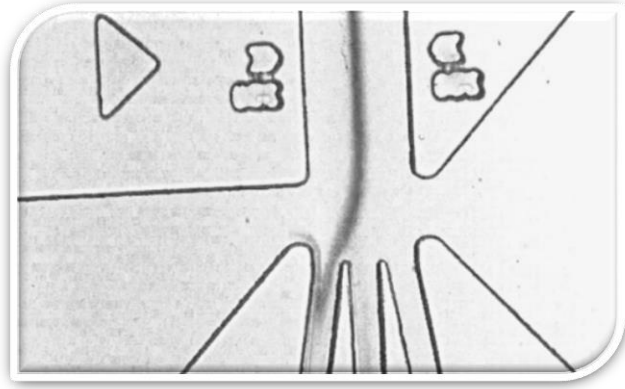
- ✓ 1分钟开机，10分钟部署，5参数细胞分选，享用一整天，1分钟内关机，无维护
- ✓ 单细胞测序、cDNA和RNA文库建立、CRISPR 基因编辑、细胞富集、细胞系开发、抗体开发、细胞库建立、T细胞单克隆、B细胞单克隆、干细胞单克隆、微生物分选、外泌体分选
- ✓ 分选后细胞，无缝衔接10x Genomics 和 QIAGEN scRNA-seq 试剂盒



WOLF 分选 - 维护就该没有

- ✓ 光源寿命45000小时，定光程，移动后无需光路校正
- ✓ 设备无内部管路，无需管路清洗，无需定期维护

WOLF 柔性细胞分选仪特点



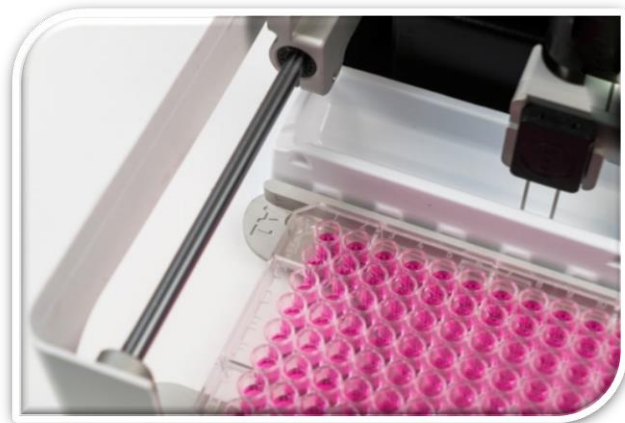
WOLF 分选 - 原理就该轻柔

- ✓ 柔性分选，分选力 $< 2 \text{ psi} / 0.138 \text{ bar}$
- ✓ 细胞原液分选，推荐细胞生长培养基，无需缓冲液，最适分选细胞环境



WOLF 分选 - 活性就该99+

- ✓ 分选后细胞纯度 $> 99\%$ ，细胞活性 $> 98\%$ ，分选后24小时细胞活性 $> 95\%$
- ✓ 单细胞植板96/384孔板，单克隆率 $> 97\%$ ，CHO单克隆长出率 $> 87\%$



单细胞获取 - 就该快、准、稳

- ✓ 96孔植板3/分钟，384孔植板12分钟
- ✓ 单细胞植单克隆率 $> 97\%$ ，2-100任意细胞数植板，双通路单克隆植板
- ✓ 单种类细胞单克隆，无需染色直接单细胞植板96/384孔板

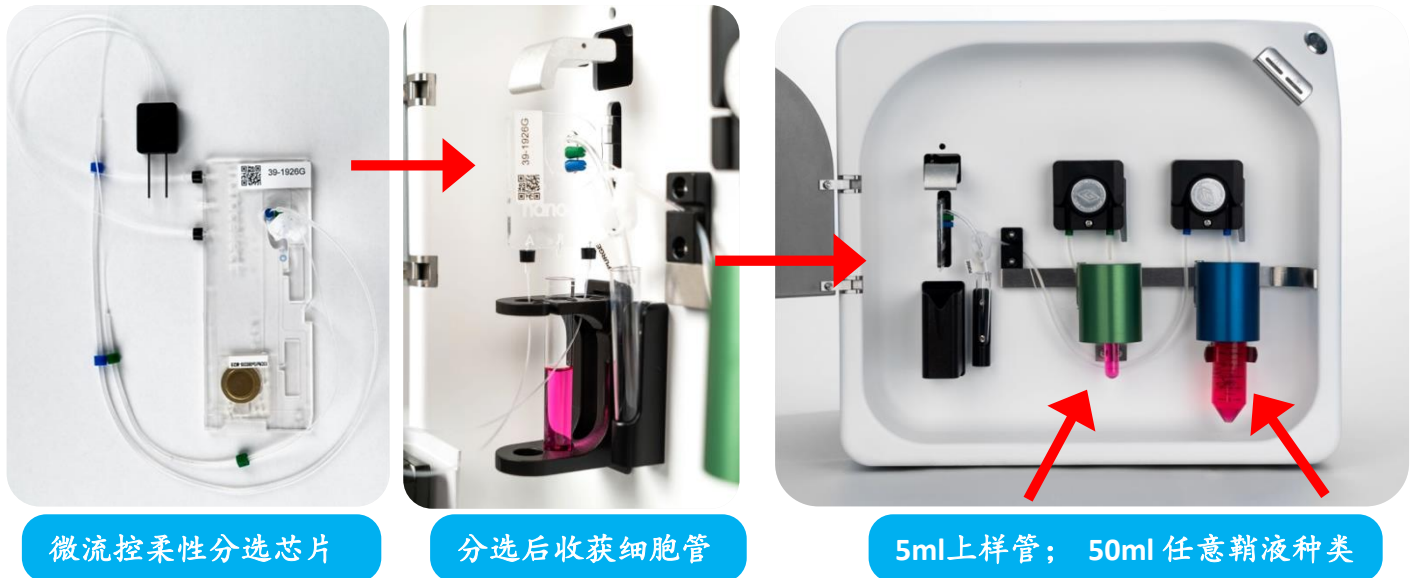


WOLF 分选 - 软件就该“傻用”

- ✓ “下一步式”操作，半天精通
- ✓ 通用 FCS3.1 格式，可兼容其它流式分选仪数据
- ✓ WOLF 软件多次安装无额外费用

WOLF 柔性细胞分选仪

WOLF柔性细胞分选仪，微流控芯片分选，彻底杜绝气溶胶生成，芯片密闭样本流路，防止样本接触任何污染源。5ml样本连续上样，50ml任意鞘液种类密闭流路。

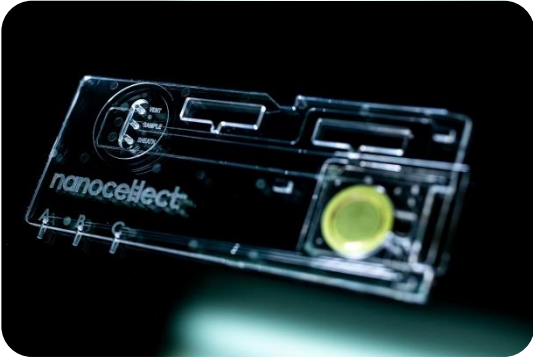


N1 单细胞分液器

N1单细胞分液器，8分钟内5参数分液单细胞（或2-100数量任选）到96孔板，单克隆率97%以上。X、Y、Z三轴可校正，校正数据存储。适配96/384细胞培养板，PCR板，任意线性排布96/384孔板。



WOLF 柔性分选样本种类



40微米



干细胞、神经细胞、CHO细胞、293细胞、T细胞、B细胞、NK细胞、前列腺细胞，

20微米



Jurkat 细胞、PBMCs、原生质体等

10微米



中性粒细胞、hela细胞、K562细胞

1微米

细胞核、酵母、大肠杆菌、微生物等

100纳米

外泌体大小磁珠

WOLF 细胞分选五参数和适合的荧光染料

	散色	前向散射 (大小)	后向散射 (复杂度)			
			Conjugated Fluorophores	Viability Dyes	Fluorescent Proteins	Tracking Dyes
488nm 激光激发	荧光染料	荧光检测器1 (500-550nm)	<ul style="list-style-type: none"> FITC Alexa Fluor 488 DyeLight 488 Qdot 525 nanocrystal 	<ul style="list-style-type: none"> Calcein Sytox Green LIVE/DEAD® stain 	<ul style="list-style-type: none"> GFP YFP 	<ul style="list-style-type: none"> CellTracker™ Green
		荧光检测器2 (565-605nm)	<ul style="list-style-type: none"> PE Alexa Fluor 546 Qdot 565 and 585 nanocrystals 	<ul style="list-style-type: none"> PI 		
		荧光检测器3 (610+nm)	<ul style="list-style-type: none"> PE-Cy5 PerCP/Cy5.5 PE-Cy7 	<ul style="list-style-type: none"> PI 7AAD Sytox AADvanced LIVE/DEAD® stain 	<ul style="list-style-type: none"> RFP (10% excitation) 	<ul style="list-style-type: none"> CellTracker™ Red

NanoCollect 公司简介

NanoCollect 公司成立于2009年底，位于美国加利福尼亚州圣迭戈市，旨在用简单而先进的细胞实验技术，为每一位科学家解决所遇到的定量化细胞实验相关的问题。公司花费8年时间来开发和完善 WOLF 技术，其微流控细胞分选平台可为生物医学科学家的药物开发、诊断开发和基础研究提供帮助，分析和分选需要的细胞。NanoCollect 的研发资金2000万美元，来自行业著名的Illumina Ventures, FusionX Ventures, Anzu Partners, Agilent Technologies, Vertical Ventures等机构的投资。



Chris Neary
CEO



José Morachis, PhD
President and Co-Founder



Will Alaynick, PhD
COO and Co-Founder



Sung Hwan Cho, PhD
CTO and Co-Founder

WOLF 微流控细胞分选仪参数

WOLF 微流控细胞分选仪参数

分选压	小于2psi/0.138bar (柔性分选)
分选原理	微流控芯片分选
上样	1.5毫升管、5毫升管、和 50毫升锥形管
收样	1.5毫升/5毫升， 96/384细胞培养板， 96/384 PCR板
最小上样体	150微升
液路流速	10毫升/小时
分选体系	细胞培养原液分选，推荐生长培养基，无需缓冲溶液
细胞分选	细胞纯度大于99%，细胞活性大于98%
WOLF尺重	39厘米×36厘米×38厘米， 20千克
N1尺重	21厘米×16厘米×20厘米， 5千克

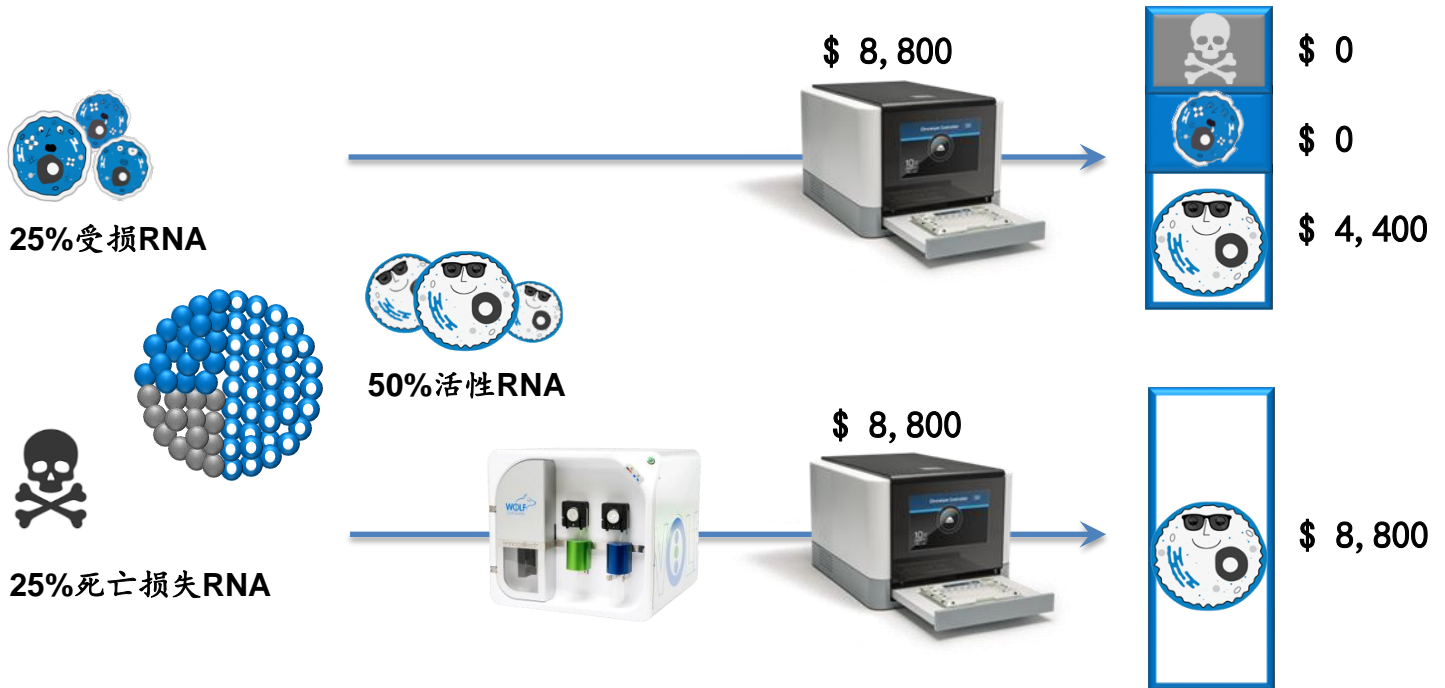
WOLF 微流控细胞分选应用精例

- ✓ 一 单细胞测序
- ✓ 二 cDNA文库和RNA文库建立
- ✓ 三 CRISPR/Cas9基因编辑
- ✓ 四 纯化富集脆弱细胞
- ✓ 五 单克隆细胞系开发
- ✓ 六 抗体开发- B细胞单克隆
- ✓ 七 抗体开发- CHO细胞和工程细胞单克隆
- ✓ 八 T细胞分选
- ✓ 九 微生物分选和多色荧光分选
- ✓ 十 多品牌细胞分选活性对比

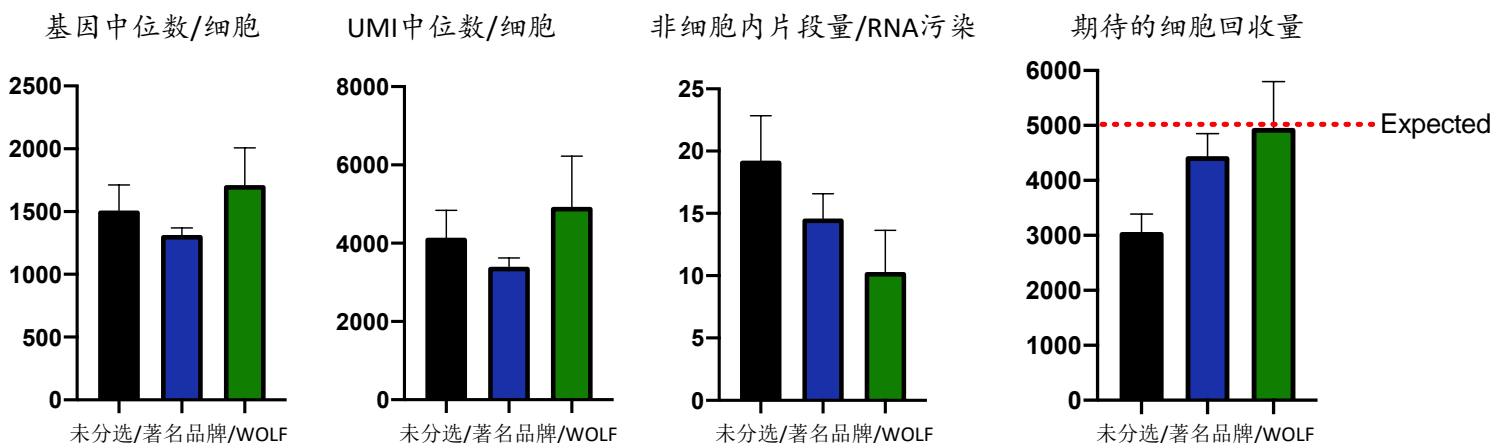


一 WOLF 细胞分选单细胞测序应用

WOLF柔性细胞分选仪，筛掉样本中，基因信息受损和的死亡细胞，分选后的每个细胞都具有高基因完整性性，再进10X Chromium Controller单细胞测序，降低浪费在死细胞和损伤细胞上的成本，成倍提高单细胞测序效率！



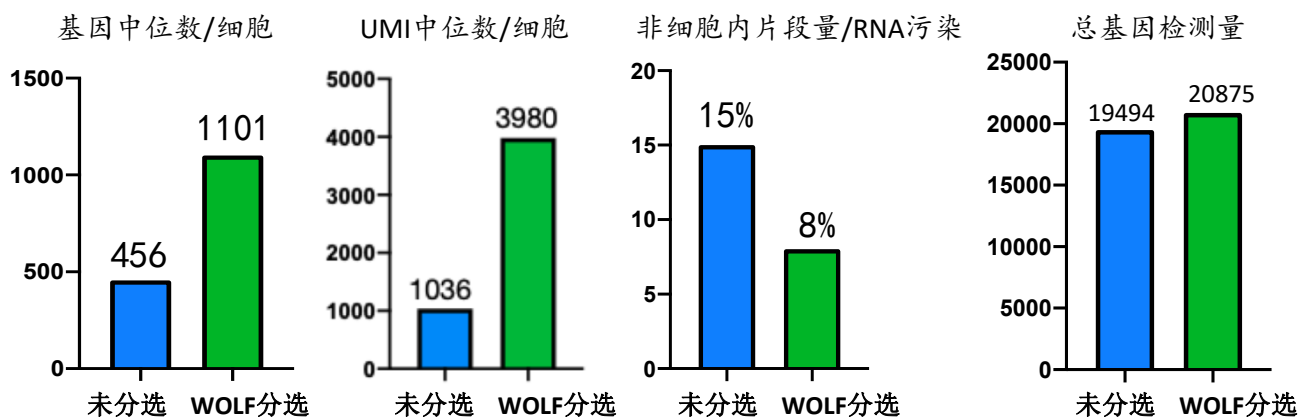
1. WOLF 分选前列腺细胞，提高10x Genomics 单细胞测序质量



WOLF 细胞分选仪，与最著名细胞分选仪品牌的最高端型号，对比分选后单细胞基因分析。从2个月大的FVB WT小鼠分离原代小鼠前列腺细胞，比较未分选，最著名品牌和WOLF分选后，用10x Genomics平台，进行scRNA-seq测序分析。结果WOLF分选后的样本，基因中位数，UMI中位数都显著提高；RNA污染降低；回收细胞量最接近预期。

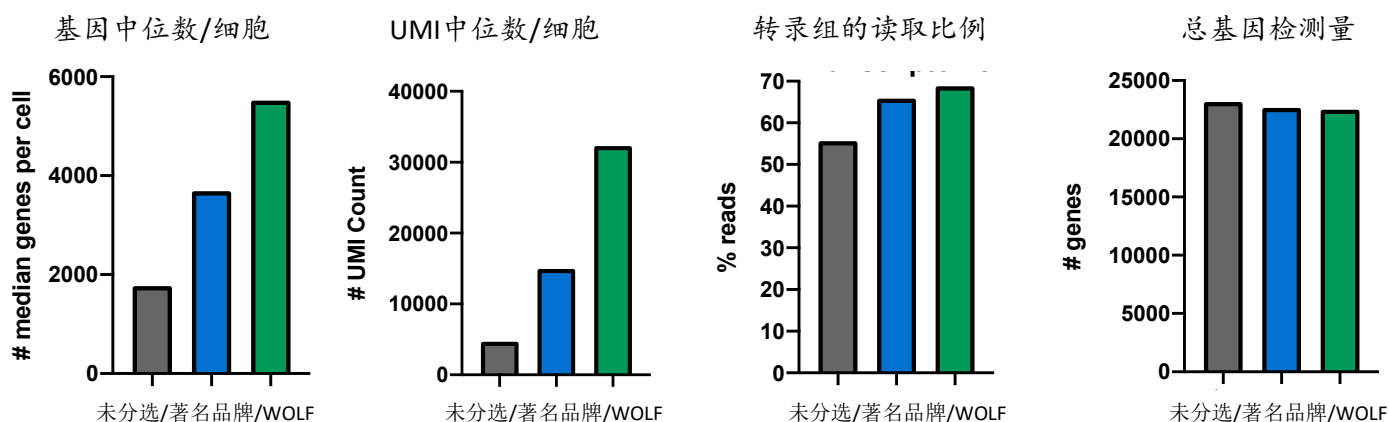
一 WOLF 细胞分选单细胞测序应用

2. WOLF 柔性分选PBMCs，提高单细胞测序质量，降低背景



PBMCs外周血单个核细胞一万，经过PI染色，用和不用WOLF分选获得两组样本，再进行单细胞测序，WOLF细胞分选后的样本，基因数/每细胞增到241%，总基因检测量增到107.1%，细胞RNA污染减少50%，UMI特征分子标签读数/每细胞增加到4倍，WOLF细胞分选方式，显著提高单细胞测序质量，降低背景干扰。

3. WOLF 柔性分选iPSCs干细胞，10x Genomics单细胞测序

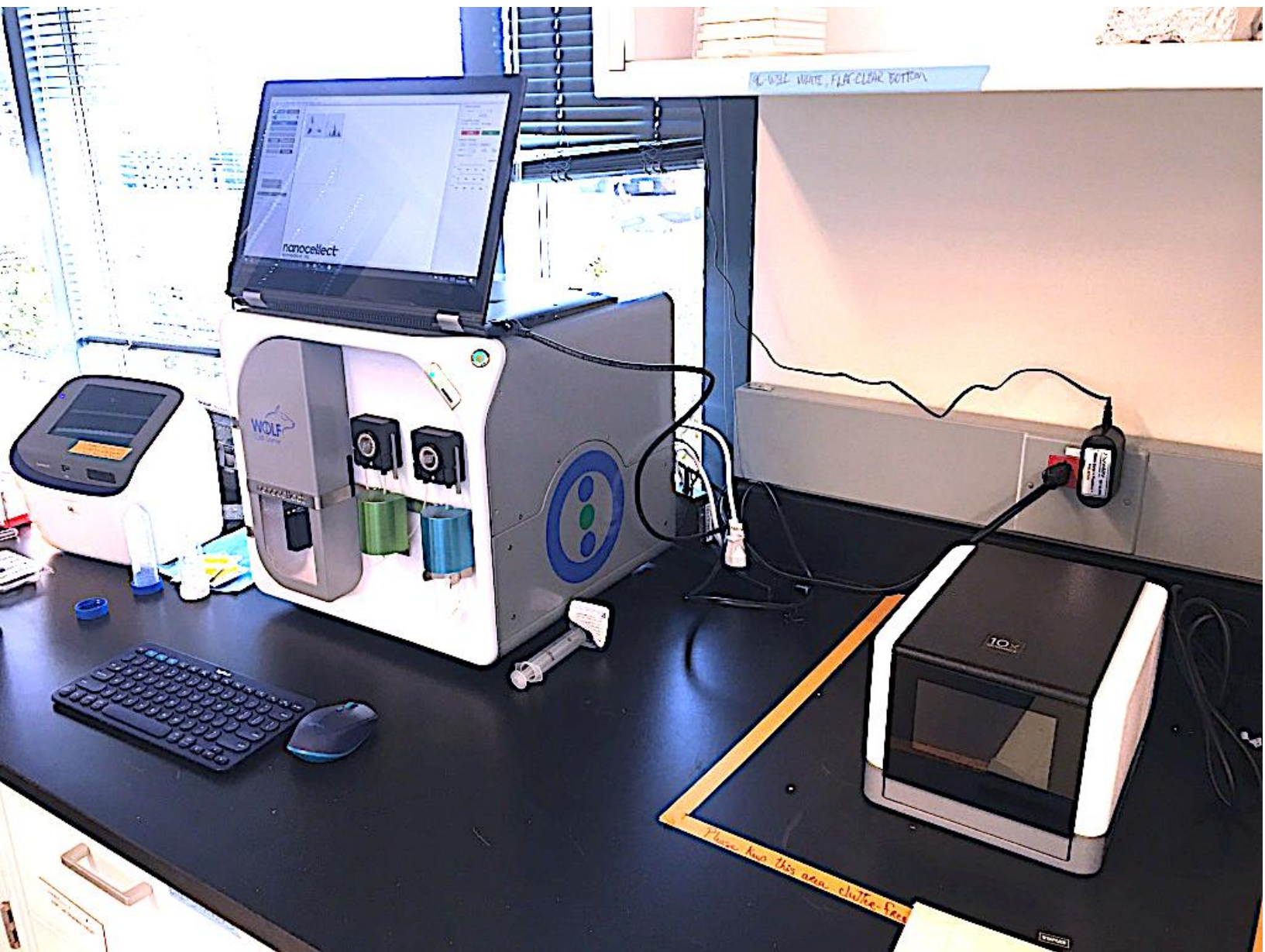


诱导多能干细胞iPSC，通常从皮肤或血液中收集，并经过基因重编程以具有胚胎特性。iPSC在研究中有海量影响，用于组织和器官的发育，新药研发和各类疾病。50,000 iPSCs细胞分别用WOLF和著名流式品牌分选，重悬浮为1000细胞/微升浓度。上10,000细胞到10 x Chromium Controller，再进行单细胞测序。结果WOLF分选的样本：基因中位数读取量增3倍，UMI读取量增7倍，显著提高iPSC单细胞测序质量。

一 WOLF 细胞分选单细胞测序应用

细胞计数仪 + WOLF微流控分选仪+ 10x Genomics

一人宽桌面，汇集单细胞测序前，完整解决方案！



二 WOLF 分选建cDNA文库和RNA文库

单细胞RNA测序技术产生新颖发现，如稀有细胞群，微生物群和癌症突变。WOLF微流控细胞分选仪，柔性分选 $< 2\text{ psi}$ ，使细胞在分选后获得更高的RNA完整性，避免传统流式分选导致的基因损伤，高效去除碎片和死细胞，直接分液1-100任选数量细胞到96/384 PCR孔板，从细胞分选无缝过渡到RNA文库制备。

1. WOLF 批量分选细胞进行10x Genomics 实验



WOLF分选与10x Genomics无缝衔接，实验要求样本包含90%以上的活细胞，细胞浓度为700-1200细胞/微升。实验分析500-10,000个单细胞，反应体系为的2.5-15微升溶液样本/反应。WOLF分选细胞样本30分钟内上样Chromium Controller，以避免细胞聚集和死亡，每芯片能同时进行8组反应。

2. WOLF 分选到96孔PCR板进行QIAGEN scRNA-seq 实验

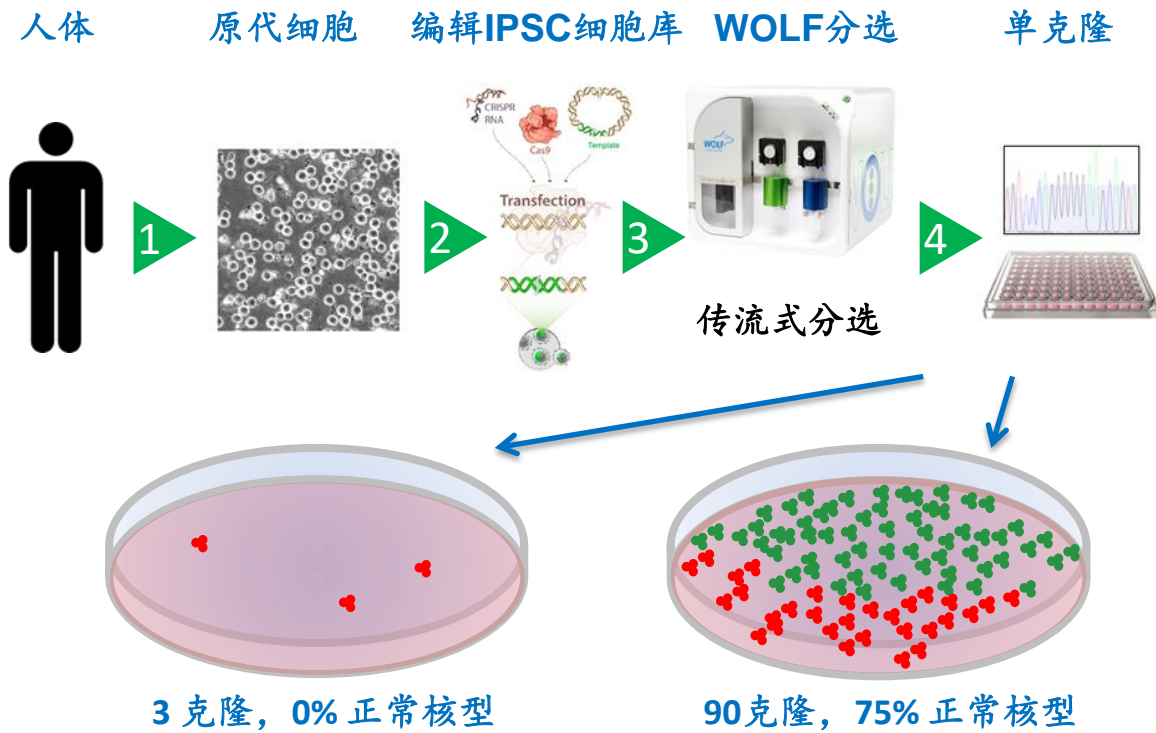


WOLF分选与QIAseq UPX 3' Transcriptome试剂盒无缝衔接。WOLF分选后的单细胞(约7微升)直接植板到PCR 96孔板，孔板内预先加入3微升细胞裂解液，进行逆转录反应，生成cDNA进行测序，本试剂盒特别适合用极少量RNA进行高通量测序。

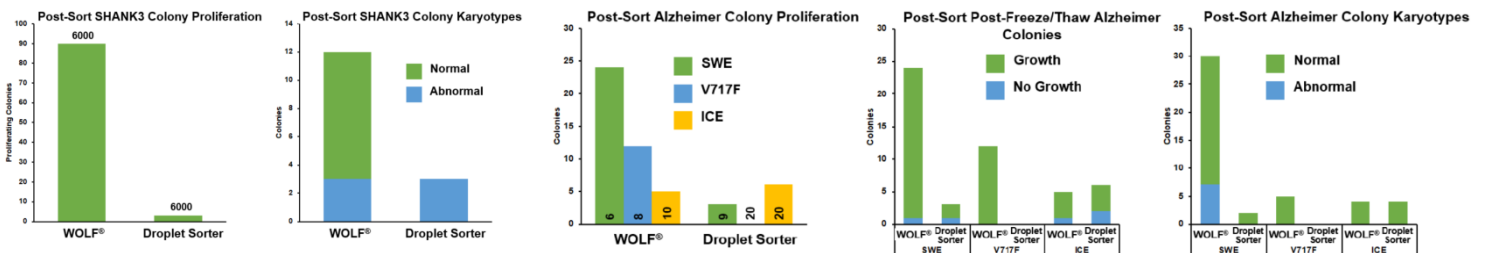
WOLF分选与QIAseq FX Single Cell Library试剂盒无缝衔接。WOLF分选后的单细胞(约7微升)直接植板到PCR 96孔板，孔板内预先加入4微升细胞裂解液，进行逆转录反应建库，然后测序。本试剂盒特别适合用1-1000细胞进行无PCR反应的建库。

三 WOLF 细胞CRISPR/Cas9编辑应用

人体提供的原代细胞，被改造成IPSC细胞，核转染sgRNA后，分别用WOLF柔性细胞分选仪，和传统著名分选仪筛选成单克隆。用WOLF分选的实验组，拥有十倍的IPSC单克隆活性，且大部分核型正常！



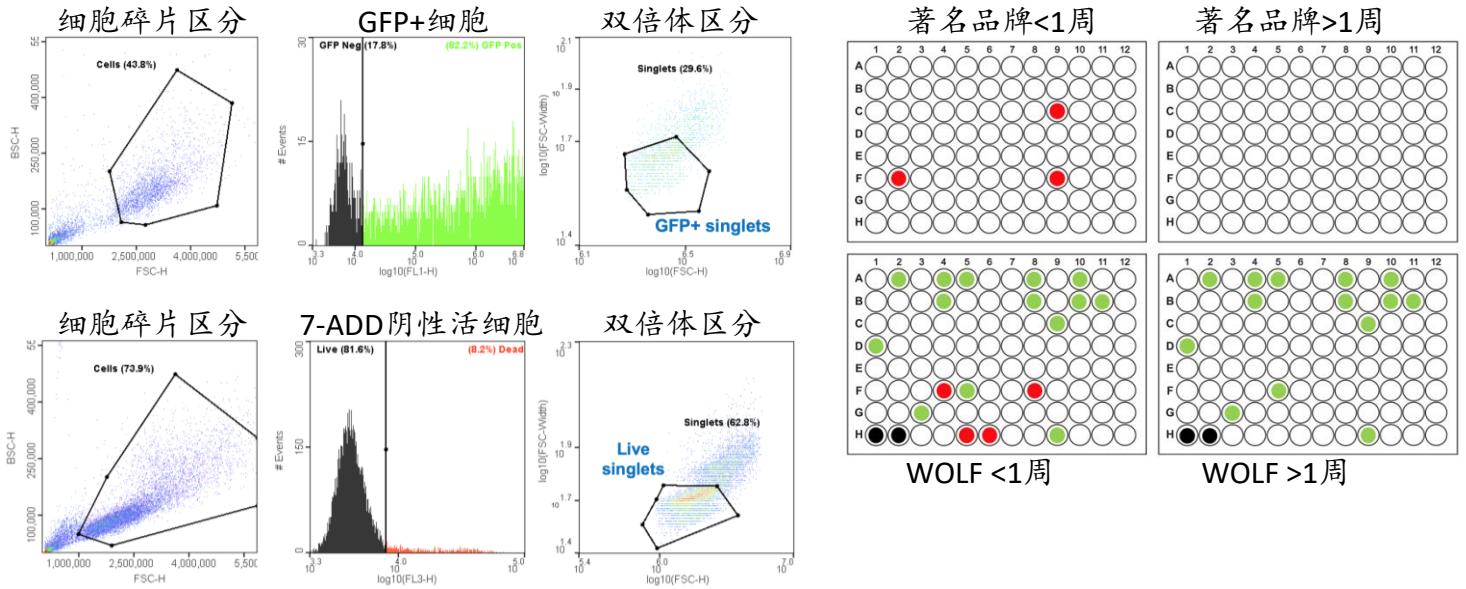
1. WOLF 分选CRISPR/Cas9编辑的IPSC细胞，建阿尔茨海默症和自闭症细胞模型



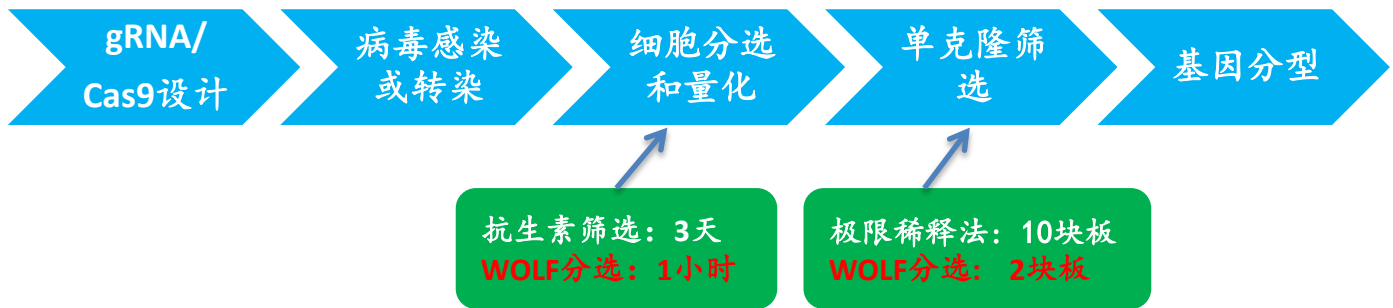
人类iPS细胞(hiPSC)，可被CRISPR/Cas9基因编辑技术，制成各种疾病的体外模型。在阿尔茨海默症(AD)，和自闭症(ASD)的模型实验中，人类成纤维细胞被改造成iPSC细胞，用CRISPR编辑敲除AD-和ASD-相关基因，以GFP来做报告基因，分别用WOLF和传统流式筛选iPSC细胞单克隆，培养1-2周，冻存复苏，再芯片核型分析。结果用WOLF分选的ASD-相关SHANK3，和AD-相关的SWE, V717F, 和ICE细胞系模型，在单克隆活性和基因组完整性上有300%以上的显著提高！

三 WOLF 细胞CRISPR/Cas9编辑应用

2. WOLF 分选CRISPR/Cas9编辑的iPSC细胞，建结节性硬化症细胞模型



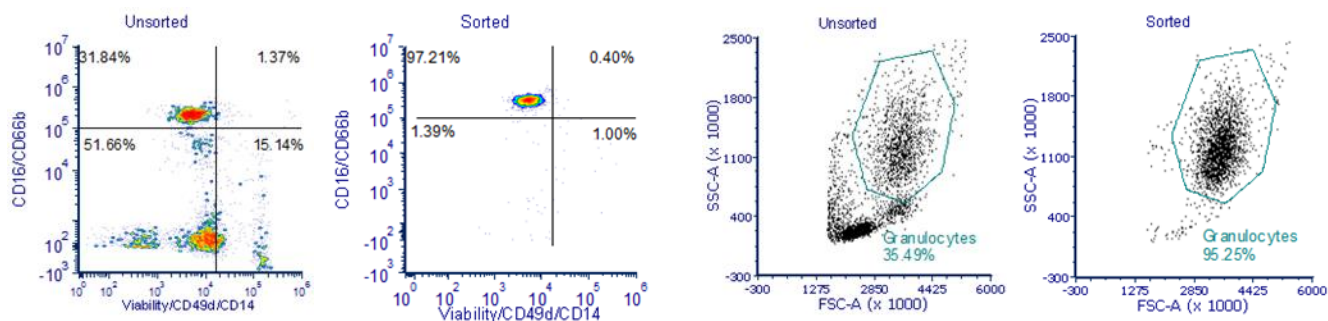
结节性硬化症(TSC)是一种常染色体显性遗传的神经皮肤综合征，用CRISPR技术敲除人类iPSC细胞中，TSC相关的TSC1基因，再分别用WOLF和最著名的传统流式仪，分选并植板单克隆iPSC细胞，培养1-2周。结果WOLF分选去掉了碎片，一周内单克隆长出率为最著名品牌的600%，一周以上最著名品牌的hiPSC单克隆已完全停止生长。



WOLF 细胞分选能大幅减少 CRISPR 流程时间。转染后，传统的抗生素筛选需三天时间去除未转染上的细胞，而 WOLF 仅需一小时；单克隆阶段，WOLF 高细胞活性（95%以上）和高单克隆长出率（87%以上），大幅减少需植板数量，同时2 psi 柔性分选，保证了单克隆干细胞的活性和完整的核型基因信息。

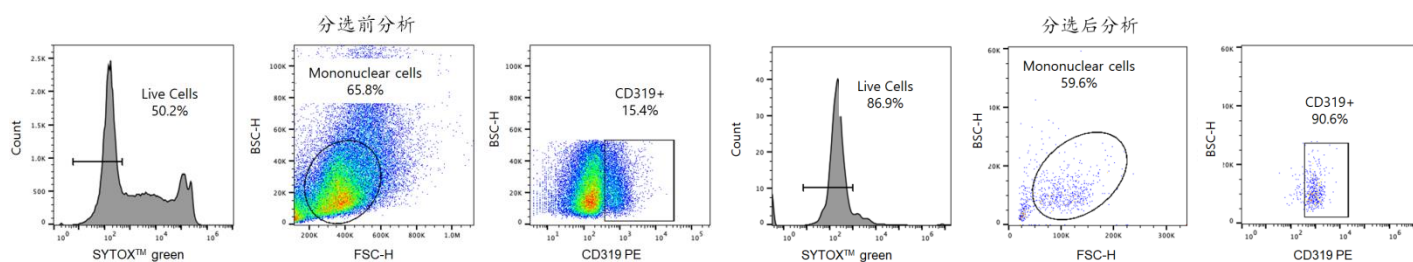
四 WOLF 纯化富集脆弱细胞案例

1. WOLF 分选纯化富集高活性的中性粒细胞



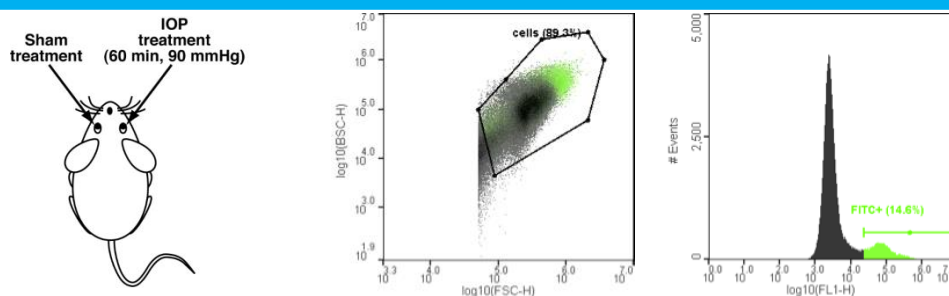
中性粒细胞在慢性炎症，急性感染中的抗菌功能中起关键作用，但半衰期只有13-19小时，非常脆弱极其不易获得。全血样本经处理后用WOLF进行中性粒细胞纯化，实验后，中性粒细胞纯度从31.84%增到97.21%，BSC或FSC检测器确认细胞纯度 > 95%。

2. WOLF 分选纯化富集多发性骨髓瘤浆细胞 (MMPCs 细胞)



MMPCs 细胞占骨髓细胞不到2%，重要但比例少不易获得。从人体获得骨髓单核细胞，用CD319-PE染色MMPCs，稀释到200细胞/微升，加SYTOX绿染死细胞，再用WOLF分选，结果WOLF的柔性分选，成功将MMPCs纯度提高到90.6%，活细胞比例提升到87%。

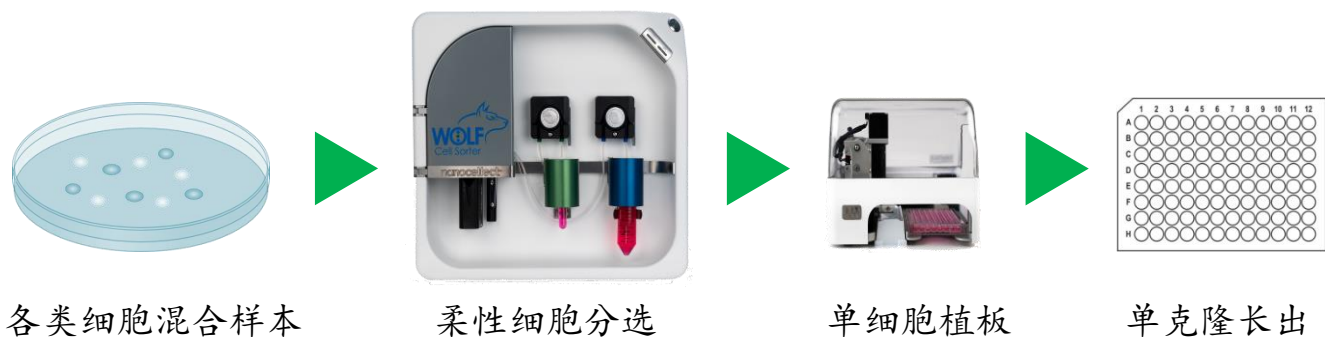
3. WOLF 细胞分选，脆弱的视网膜神经节细胞



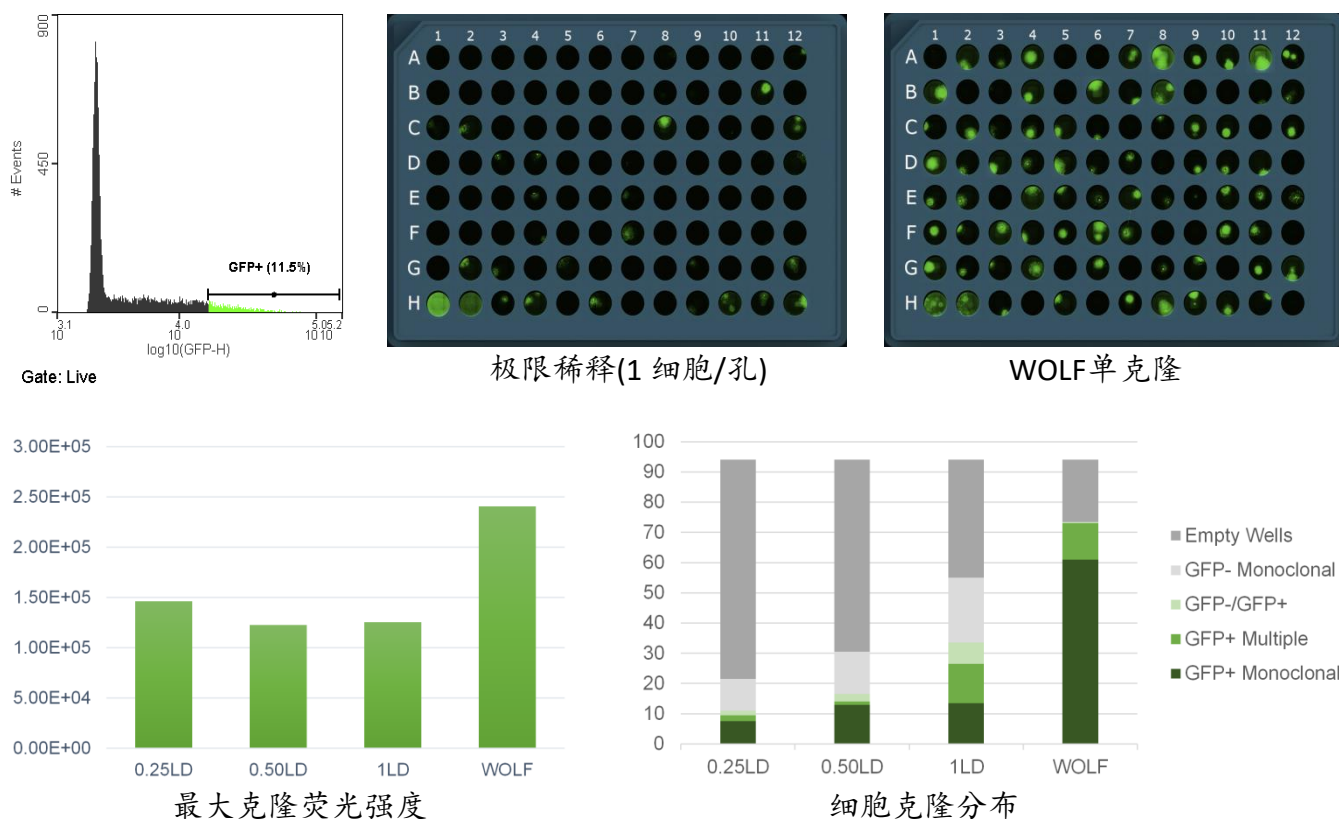
视网膜神经节细胞非常脆弱，传统分选无法获得。摘取老鼠的视网膜分解，悬液用FITC-CD90.2抗体染色，标记视网膜神经节细胞，总细胞数中14.6%的细胞被标记，通过WOLF柔性分选，获得各类基因型下，11%的CD90.2阳性细胞，进行下游以ATAC-seq测序验证。

五 WOLF 单克隆细胞系开发应用

制备稳定的单克隆细胞系，有广泛的生物应用如：治疗性抗体研发，建立CRISPR基因编辑的疾病模型等。尽管对细胞系的需求日重，但单克隆的制备仍是当前单细胞分选和分液技术的瓶颈。WOLF微流控细胞分选技术，能柔性分析、分选和分液单细胞到96/384孔板，保证分选后高细胞活性和惊人的单克隆长出率，解决细胞系开发过程中的难点。



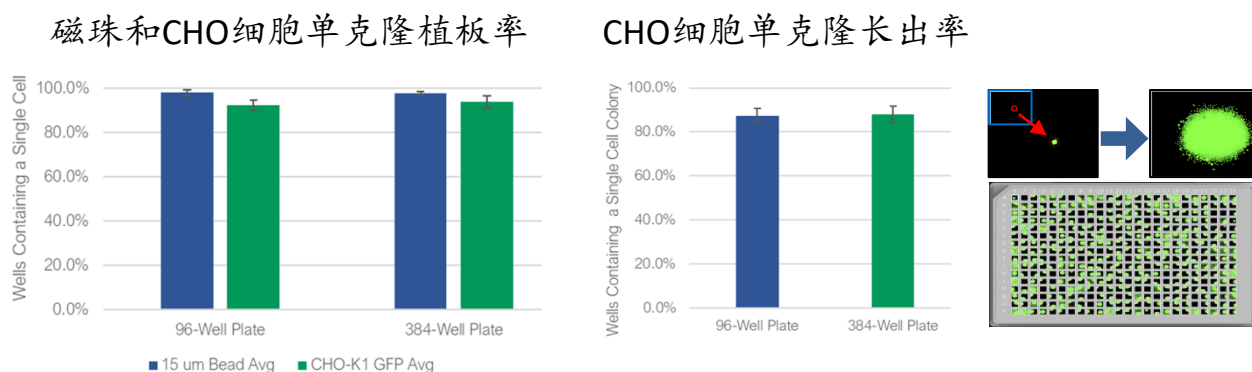
1. WOLF 筛选CHO细胞，比极限稀释法单克隆提高16倍效率



CHO-K1与CHO-K1-GFP细胞50:50混合，模拟50%细胞转染效率，用WOLF分选去掉双倍体及7-ADD染色的死细胞，筛选GFP表达最强的10%细胞，N1单细胞植板96孔板。同样用极限稀释法制0.25, 0.5, 和 1 细胞/孔到96孔板，培养14天。结果对比，WOLF单克隆率增至8倍，荧光强度增至2倍。GFP阴性率为1/30，甚至无需下游验证实验。

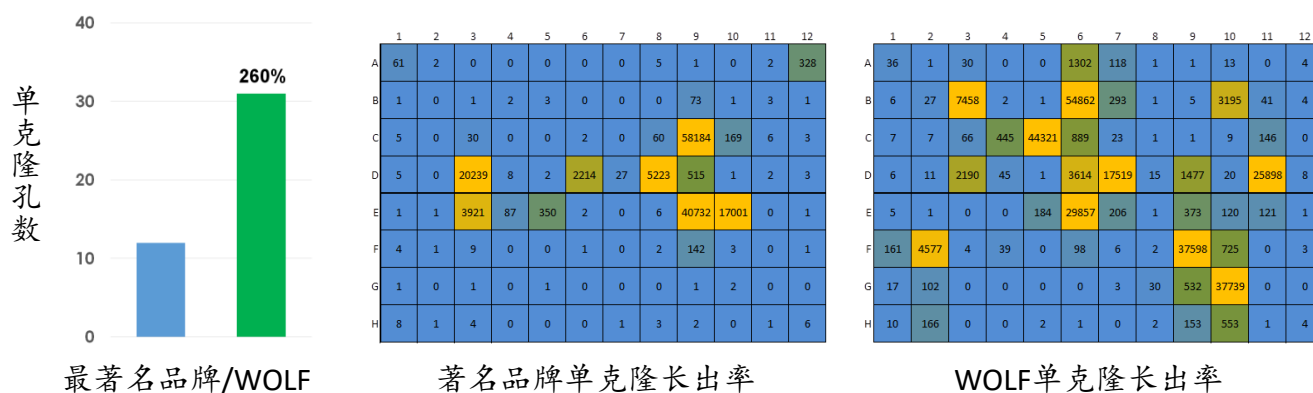
五WOLF 单克隆细胞系开发应用

2. WOLF 分选获CHO细胞高单克隆率长出率



用WOLF细胞分选和N1分液15 μm磁珠和CHO-K1 细胞到96孔板和384孔板，磁珠的单克隆率为98.1±1.2%/96孔板，97.8%±0.9%/384孔板；CHO-K1 细胞的单克隆率为92.5%±2.3%/96孔板，93.8%±2.8%/384孔板。经过14天培养，CHO-K1 细胞单克隆长出率为87.4±3.3%/96孔板，88.1±3.7%/384孔板。

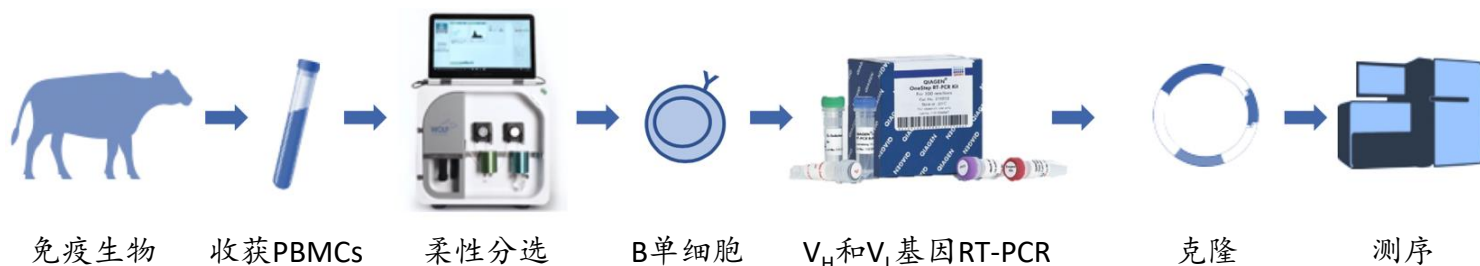
3. WOLF 分选获Jurkat细胞高单克隆长出率



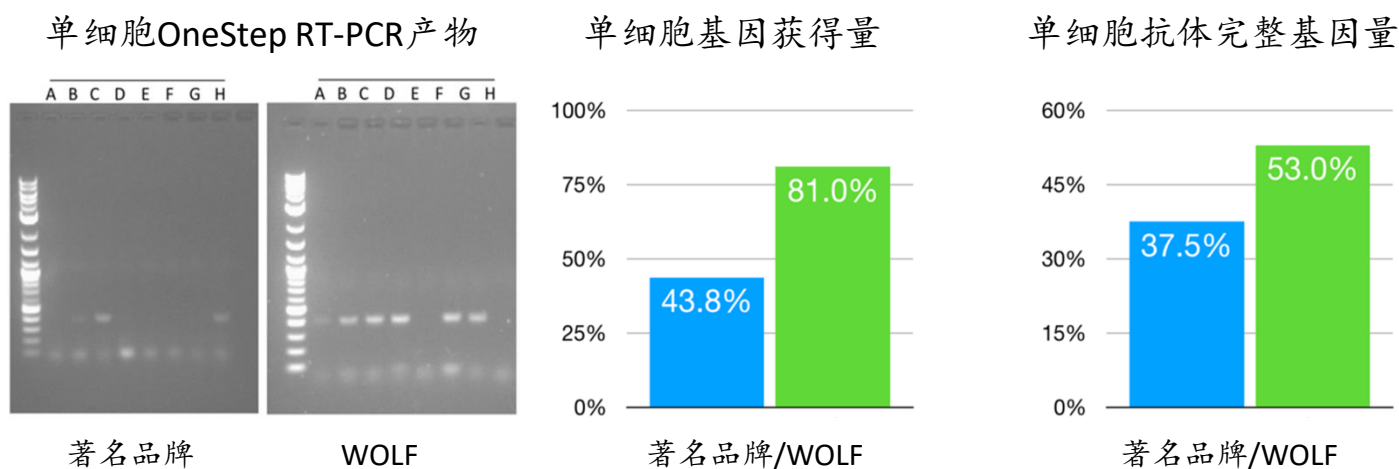
用WOLF细胞分选加N1分液器，和最著名流式分选品牌，分别对某十大制药企业的Jurkat工程细胞系进行单克隆96孔板植板，再培养2.5周。结果WOLF比最著名品牌高20%的单克隆率，并且WOLF的单克隆长出率(>100细胞)是最著名品牌的2.6倍，完美展现柔性单克隆实力。

六 WOLF 抗体开发-B细胞单克隆分应用

牛源抗体有超长CDR H3结构域，此特征在其它物种的抗体未见，具有开发抗体表位针对结构复杂抗原的能力。因此，作为潜在多种抗原的临床治疗和研究工具，牛免疫球蛋白具有巨大的发展潜力。实验通过抗原免疫牛体，收集PBMCs，柔性分选IgG+ B 单细胞细胞，用OneStep RT-PCR 试剂盒逆转录生成V_H和V_L cDNA 基因，扩增后克隆和测序。



1. WOLF 分选PBMCs获得更好的B单细胞和抗体基因



从免疫牛血液获得PBMCs，分别用WOLF和著名传统流式分选IgG+B细胞，逆转录生成V_H和V_L cDNA 基因，扩增后测序。结果WOLF相比传统流式分选仪，多至200%的B单细胞基因数量。抗体重链和轻链的基因组获取量也提升40%，完美诠释WOLF柔性细胞分选为抗体开发带来的加速度，而传统流式高压分选原理，损伤B细胞，破坏基因的完整性。

七 WOLF 抗体开发应用

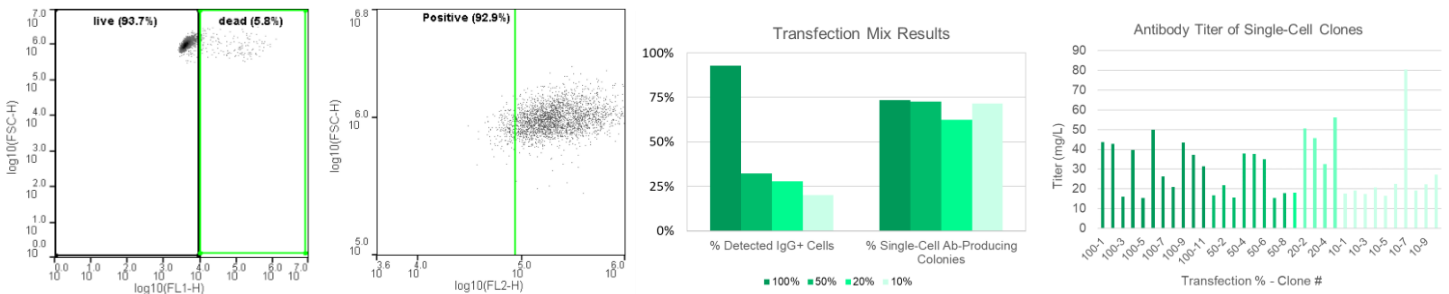
治疗性抗体的筛选和开发，甚至需10年多才能到商用生产阶段，每个环节都需要效。发现抗体到临床前表征和商用生产，需获得稳定高产的单克隆细胞系，而传统的极限稀释法耗时费力，41%-77%孔根本无细胞，剩25%-43%孔含目标单克隆，因此分选高抗体产量的活性单细胞为整个环节的瓶颈。



美国最著名的CRO公司，用WOLF分选高产量抗体的活性细胞，提高抗体开发效率。转染CHO细胞，组成mini-细胞池，检测目标抗体产量和滴度水平，取代传统的极限稀释法而用WOLF对高产量细胞池进行单克隆植板，测滴度，对最高滴度的单克隆进行各种属性表征。



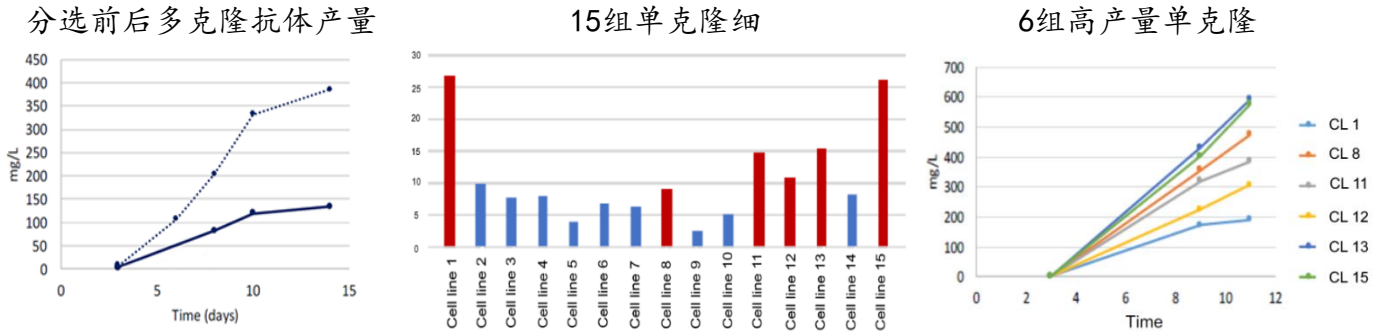
1. 顶级CRO企业，WOLF分选高抗体产量CHO细胞单克隆



检测细胞的抗体分泌情况，并用WOLF进行分选，用SytoxGreen染料阳性100%去除掉转染细胞群体中的死细胞，PE-抗人IgG+分选出92.9%的细胞。转染细胞按照人IgG抗体滴度100%、50%、20%和10%植板。对于每个板，产生抗体的单克隆细胞占孔内细胞量的73%、73%、63%和71%。从不同的转染池中，优化分选高抗体分泌的单克隆。

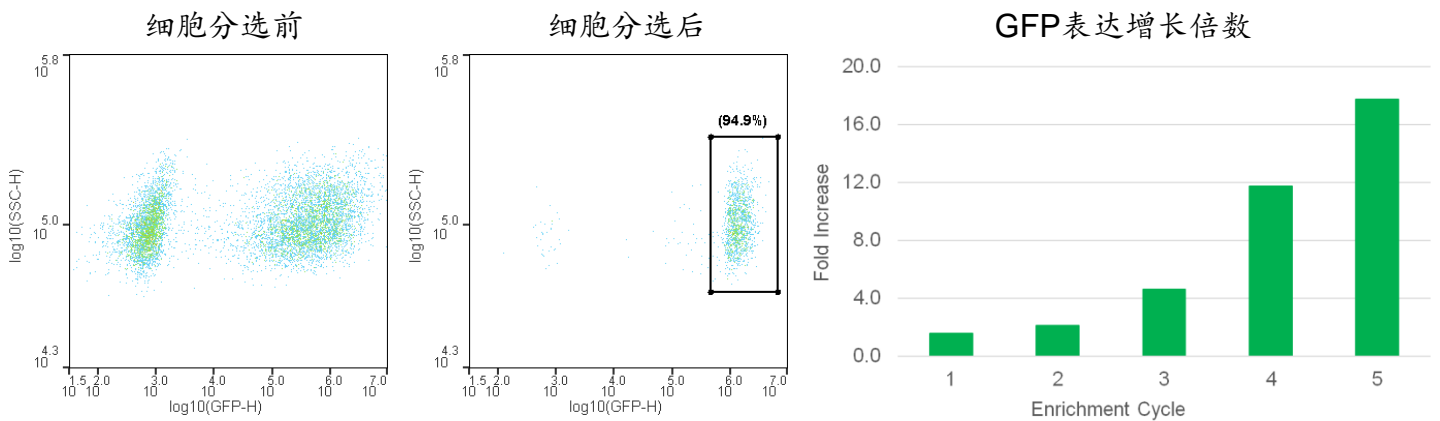
七 WOLF 抗体开发应用

2. WOLF 分选特异工程细胞，提高多克隆抗体和单克隆抗体产量



从顶级治疗抗体研发公司获最难生长的专有，FITC偶联特异性抗体的细胞。WOLF批量筛选出15,000细胞，经14天培养，多克隆抗体产量由130 mg/L增至400 mg/L。N1分液此细胞为15组单克隆，培养20天，从中选6组(抗体表达量>9 mg/L)，经11天培养，抗体表达量增至6倍。

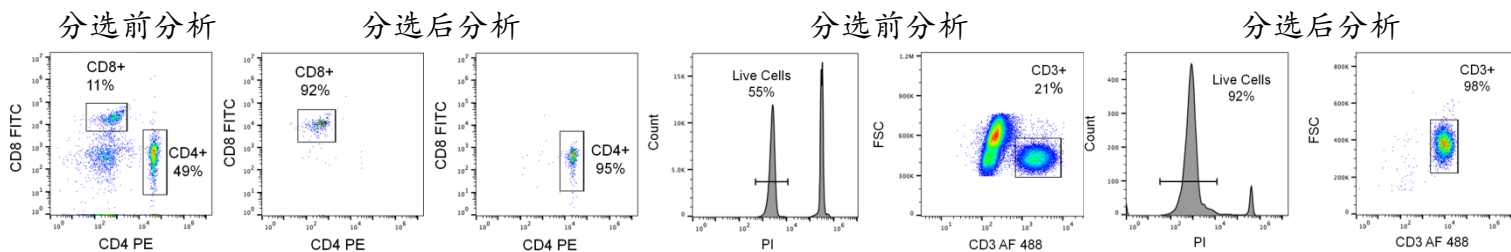
3. WOLF 柔性批次分选细胞，提高蛋白表达量至18倍



CHO-K1与CHO-K1-GFP细胞50:50混合，模拟50%细胞转染效率，最终浓度 3×10^5 细胞/毫升，用WOLF分选，去掉双细胞及7-ADD染色的死细胞，获取GFP表达最强的10%-15%细胞，纯度94.9%，培养一周。重复操作4次。与对照组比，WOLF提高GFP代表的蛋白表达量至18倍。

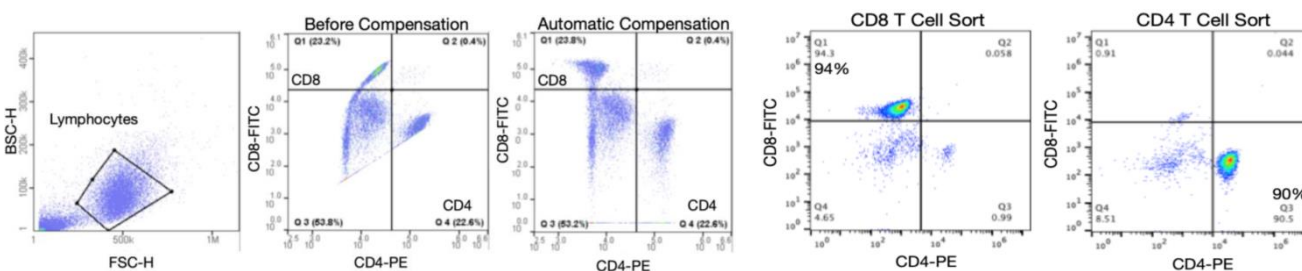
八 WOLF T细胞分选应用

1. WOLF 分选CD4+T细胞和CD8+T细胞，高活性并去死细胞



用CD8-FITC抗体和CD4-PE抗体，染色人类PBMCs细胞后，稀释成200细胞/微升进行分选，结果分别获得92% CD8+和95% CD4+纯度的T细胞；用CD3 AlexaFluor 488和PI染色看T细胞分选后活性。分选前PBMCs细胞中活细胞占55%，其中CD3+占21%。柔性分选后，存活细胞占92%，CD3+细胞为98%，结果证明WOLF分选过程，不但去除了死细胞，且对细胞几乎无损。

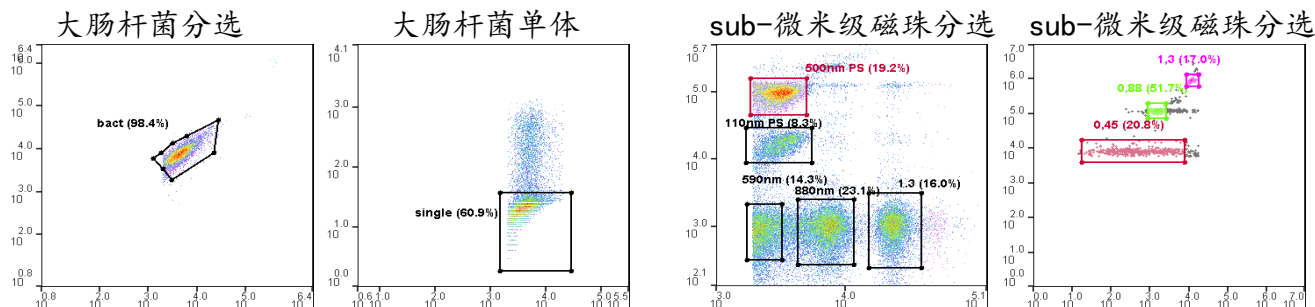
2. WOLF 从冻干复融的Veri-Cells™中分选高纯度T细胞



Veri-Cells™ PBMCs复苏后，用CD8-FITC抗体和CD4-PE抗体染色500,000细胞20分钟，稀释到150 cells/ μ L，以PBS为鞘液用WOLF进行分选，淋巴细胞用BSC和FSC检测区分，将CD8 + FITC细胞分选到通道A，将CD4 + PE细胞分选到通道C。结果获得纯度94%的CD8+T细胞9000个，和纯度90%的CD4+T细胞9000个。

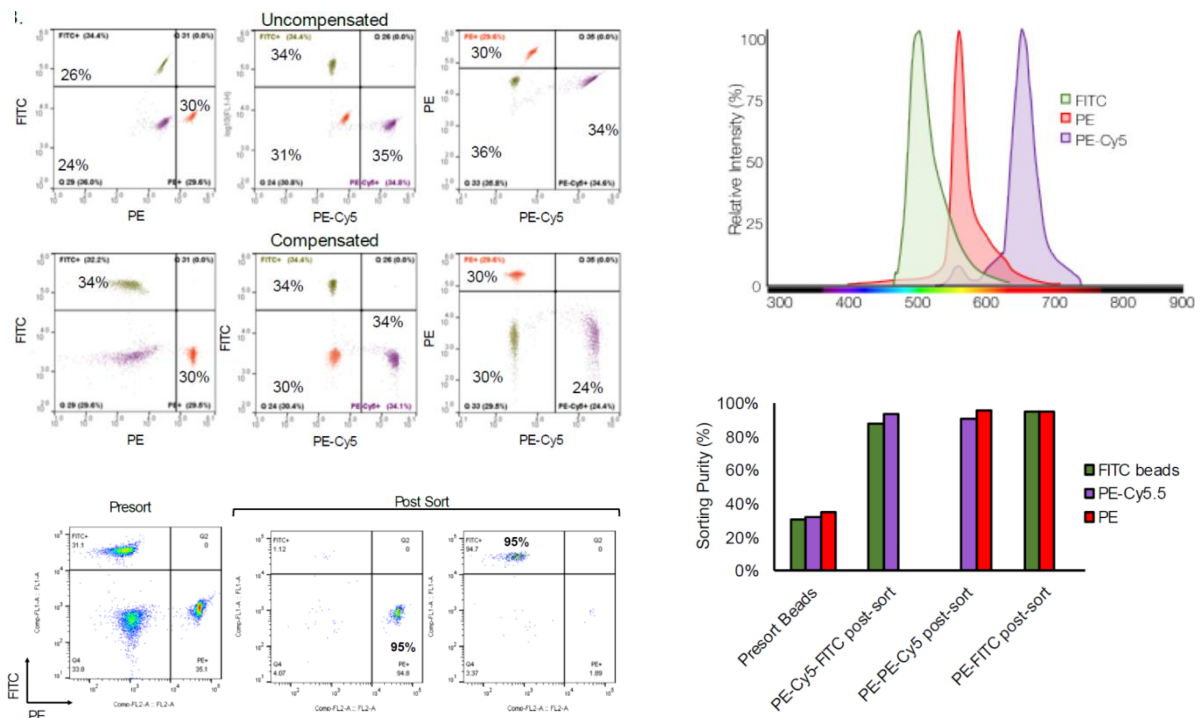
九 WOLF 微生物分选和多色荧光分选应用

1. WOLF 分选大肠杆菌 E.coli 和外泌体大小磁珠



WOLF分选仅用BSC或FSC检测器，就能分选 1-4微米大肠杆菌，得到E.coli纯度98.4%，WOLF分选外泌体大小的磁珠：1350 nm、880nm、590nm、500nm、和 110nm。结果是WOLF分选能很好地分选微米级的大肠杆菌，能分选100nm-微米以下级别的外泌体(0.03 到 1 微米)。

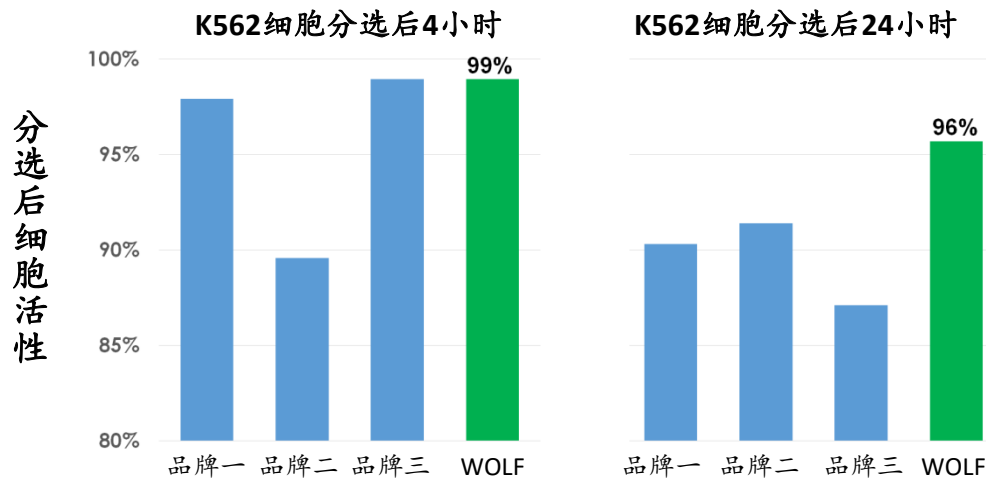
2. WOLF 多色荧光流式分选



WOLF分选多色磁珠。FITC、PE、和PE-Cy5标记的磁珠，各自按33%比例混合成100磁珠/ μ l溶液进行分选，补偿调节后，A和C通路各自分选出约1000个磁珠，三种颜色磁珠分选后纯度都约为95%。

十多品牌细胞分选活性对比

1. WOLF 分选 K562 细胞4/24小时后，细胞活性与其它品牌对比



WOLF 细胞分选仪与三家著名低压流式细胞分选仪品牌分选K562 细胞4小时和24小时后，细胞活性测定对比结果显示，WOLF 24小时后仍保持96%以上的最高细胞活性，分选过程最轻柔，细胞基因信息保持最完整。该数据由权威第三方学术机构提供。

地球上细胞活性最高-WOLF流式分选仪!

