

瑞格生物“循环肿瘤细胞/杂合细胞”捕获平台答疑

问：贵司的“CTC/CHC”捕获平台是代理还是自主研发？知识产权怎样？

答：整个平台为瑞格生物公司完全自主研发，取得独立的知识产权，并申请有国内国际相关专利。

问：贵司的“CTC/CHC”捕获平台的分离原理是怎样的？

答：分离原理：级联式微流控确定侧向位移分离，基于细胞尺寸、细胞弹性形变特性、流体力学原理等综合因素，分离过程对细胞没有损伤，分离后的细胞具有很好的活性，下游应用场景广泛。

问：贵司的“CTC/CHC”捕获平台包括哪些核心模块？

答：主要包括动力模块和芯片模块，动力模块提供精确的空气动力控制，芯片用来分离细胞，也是核心部件。

问：贵司的分离平台需要对样本进行红细胞破碎处理么？

答：不需要，目标样本加入专用稀释液一步上样即可。

问：贵司的分离平台是否专业性很高，或者需要专业培训？

答：该平台操作简单，普通人员经过我司 2-5 天培训均可快速上手。

问：贵司的平台是否完全成熟，是否可以市场推广应用？

答：我司自创的分离平台是一种基础工具，已经完全成熟且已量产投放市场，但具体的下游应用场景需要使用者自己挖掘，目前已经明确的应用场景包括免疫荧光/FISH 染色、细胞培养、单细胞测序、数字 PCR、药筛药敏研究等等。

问：贵司的平台已经分离过多少样本？

答：处理样本量超过 6000 例。

问：贵司的平台目前市场应用如何？

答：我们是高新技术创业公司，结合自身能力目前主要集中在广东市场应用推广，跟深圳和广州的几乎所有大医院均有合作，已得到一些颠覆性成果。

问：抽取静脉血的试管有什么要求？

答：试管没有特殊要求，普通 EDTA 抗凝管就可以。

问：抽取的血液样本一般建议多少 ml？

答：根据抽血难易程度，一般在 1-10ml 都可以上机分离。

问：贵司的分离平台对癌种有限制么？

答：平台是基于微流控的物理方法，实体瘤都可以应用。

问：贵司的平台除了外周血还有哪些液体样本可以分离？

答：可以分离的液体样本包含外周血、脑脊液、胸腔积液、骨髓等。

问：离体的样本需要怎样保存？

答：离体样本需要保存在 10°C-20°C，这样内含的杂合细胞存活度最为理想。

问：离体的样本有处理的时效性要求么？

答：离体的样本在 8 小时内上机分离最为理想，新鲜的样本能得到高质量的杂合细胞。杂合细胞会随着样本离体时间的延长逐步凋亡，如果不关注杂合细胞，只分离 CTC，则建议在 24 小时以内上机分离。

问：贵司的分离平台处理一个样本需要多长时间？

答：除去分离前的实验准备，理想的上机处理时间一般为 2min/1ml 样本，当然可以增加气压提高分离速度至 1min/ml。

问：细胞分离的环境是否需要无菌无尘环境？

答：不需要无菌，无尘的要求也不高，普通实验室环境即可。

问：贵司的平台可以分离哪些种类的癌细胞？

答：所有的实体瘤癌细胞都能精确分离。如：肺癌、肠癌、乳腺癌、肝癌、胃癌、前列腺癌、胰腺癌、食管癌、头颈鳞癌、甲状腺癌、卵巢癌、宫颈癌、子宫内膜癌、黑色素瘤、肾癌、胆管癌、膀胱癌、尿路上皮癌、神经母细胞瘤、尤文肉瘤、横纹肌肉瘤、脑癌。

问：贵司的试剂盒包含哪些东西？

答：包含芯片、5 个试管、5 根毛细分离管、5 个分离头、专用试剂、稀释液、抗体。

问：请问贵司的平台用的分离 buffer 是什么？

答：Buffer 是我们公司的专利配方，以 PBS 为主。

问：贵司分离一管 7.5ml 的样本，最后收集到的含 buffer 和目标细胞的总体积会有多少 ml？

答：一般 7-10ml 左右。

问：分离得到的目标细胞纯度如何？

答：目标细胞中没有红细胞，但还有部分白细胞，一般 7.5ml 血分出的白细胞数量会在 100-5000 个，病人样本之间会有较大差异。

问：分离出来的细胞如果需要做体外培养，还需要做什么处理？

答：部分样本经过我们仪器分离出来的 CTC 及 CHC 不需要特别处理

就能养活，但细胞培养最优条件需要依癌种摸索。

问：一管 7.5ml 的样本分离得到的目标细胞数量会有多少？

答：CTC 及 CHC 数量因不同病人变化很大，多的时候几百上千，少的时候为 0，晚期病人较多。

问：CTC 及 CHC 数量是根据什么得出来的？

答：数量可通过免疫荧光鉴定或单细胞测序进行定量分析。

问：贵司分离出来的 CTC 及 CHC 都会进行常规染色，才能得到计数结果，如果需要继续培养细胞，是不是就不能进行染色定量了？

答：这种情况可以多抽一管血，一部分用于染色确定数量和分子 marker 表达，一部分做细胞培养，也可以一管 7.5ml 血少部分做染色，大部分做培养。

问：分离得到的 CTC 及 CHC 如果做细胞培养，分离出的 buffer 是否需要清洗？

答：Buffer 主要是 PBS 溶液，离心重悬、加入培养基就可以了。

问：细胞培养过程中白细胞的情况是怎样的？

答：培养过程中，白细胞会慢慢死掉，但杂合细胞会增殖明显。

问：贵司目前实验过哪些特异性抗体？

答：角蛋白 CK、波形蛋白 Vimentin、上皮细胞黏附分子 EpCAM、PD-L1、CD99、NSE 等

问：贵司平台相对于其他平台的优势是什么？

答：优势一，分离得到活细胞，便于培养、基因分析、单细胞测序等下游工作开展；优势二，能分离捕获杂合细胞。

问：贵司的检测鉴定报告模板是怎样的？

答：如下是报告模版，会有 CTC 数量、杂合细胞数量、PDL1 表达或其它感兴趣 marker 的表达情况。

采样日期：XXXX-XX-XX

分离日期：XXXX-XX-XX

瑞格生物循环肿瘤杂合细胞检测报告

姓名		年龄	
性别	男 <input type="checkbox"/> 女 <input type="checkbox"/>	样本类型/样本量 (ml)	
癌症类别/分期			
送检医院			
检测介绍	本检测通过微流控芯片从外周血中捕获循环肿瘤细胞，通过免疫荧光试剂对捕获的细胞进行标记，进而通过荧光显微镜对捕获的细胞进行鉴定。CK（角蛋白）为肿瘤细胞的特异标记物，CD45 为白细胞的特异标记物，DAPI 可与染色体的 DNA 结合，用于细胞核染色。通过特异性免疫荧光染色，可以有效区分肿瘤细胞与血液细胞。CTCs 是指 CD45-/CK+/DAPI+且符合肿瘤细胞形态的细胞。杂合细胞是指 CD45+/CK+/DAPI+、与肿瘤免疫相关的一类细胞，形态上分为实性融合细胞和 cell-in-cell (CIC) 融合细胞。		
CTC 计数	X+X 个细胞团		
实性融合计数	X		
CIC 融合计数	X		
免疫荧光染色			

附 1：检验记录

检验时间	CTC 阳性细胞	实性融合细胞	CIC 融合细胞
XXXX-XX-XX	X+X 个细胞团	X	X

附 2：循环肿瘤细胞检测概述及应用

循环肿瘤细胞	由实体瘤或转移灶释放进入外周血的肿瘤细胞。循环肿瘤细胞的存在是恶性肿瘤患者复发或远端转移的重要原因，也是导致肿瘤患者死亡的重要因素之一。通过液体活检方法代替组织活检，不仅大大降低了患者的痛苦程度，同时可以满足动态检测病情发展的要求。
应用	1. 肿瘤的早期诊断
	2. 治疗效果评估
	3. 预后和监测复发

注：检测结果仅对此样本且反映本次血液样本采集时受检者体内循环肿瘤细胞、免疫相关融合细胞状态。单凭循环肿瘤细胞检测不能完全反应病情变化，尚需结合影像学、肿瘤标记物变化等综合考虑。