



Miltenyi Biotec

MultiMACS Cell24 Separator Plus

Formation utilisateur

Shahul MOUHAMAD

Chef Produits

+33 6 78 40 62 65

+33 1 56 98 16 16

macs@miltenyibiotec.fr





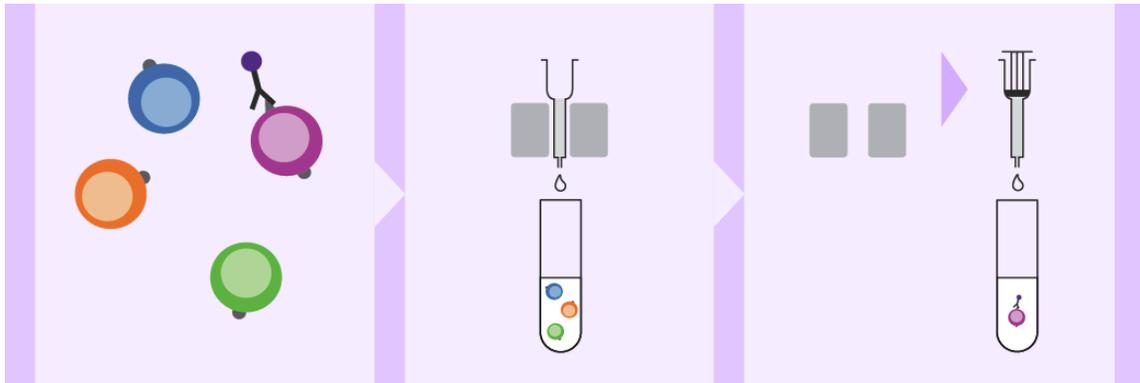
MACS® Technology - Principe

Marquage magnétique avec les MACS® MicroBeads

Les cellules marquées sont retenues dans la colonne.

Elution de la fraction de cellules marquées, en décrochant la colonne de l'aimant.

Les cellules non marquées sont éluées dans la fraction négative.

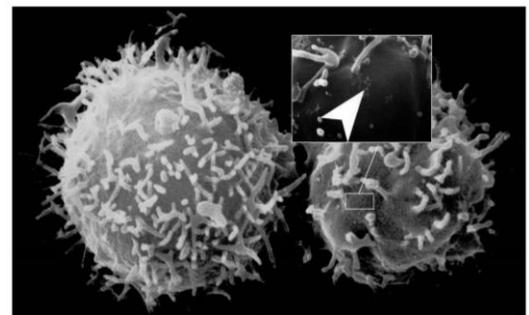


MACS® MicroBeads:

- Particules super-paramagnétiques de **50 nm** de diamètre (↔ taille d'un virus)
- **Biodégradables** et **non toxiques**
- Utilisables en manuel et sur autoMACS Pro

Avantages:

- Structure, fonctions et activités cellulaires préservées
- Compatible avec la cytométrie en flux, la culture cellulaire, la purification de protéines et l'extraction d'ARNm



Cellules T CD8+ T isolées par MACS



MACS® Technology- Préparation des cellules

Points importants en amont du tri:

- Une suspension de cellules bien individualisées = pas d'agrégat
- La Filtration des cellules: Ø **30µm** (capacité des colonnes)
- Une bonne préparation = très bonne qualité du tri

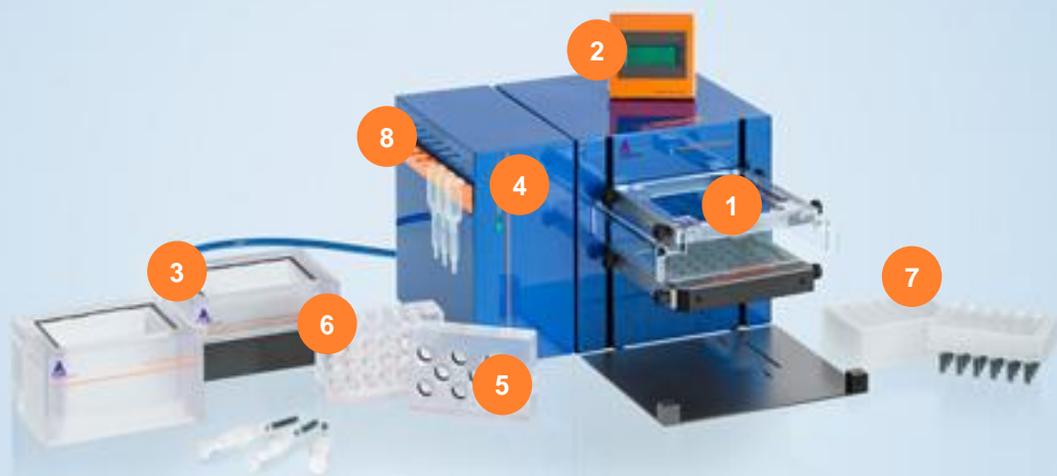
Origine des agrégats et solution:

- Adhérence : ajoutez de l'**EDTA** au tampon (**Running Buffer**)
- Cellules mortes : essayez d'éliminer les cellules mortes (**Dead Cell Removal Beads**)
- Débris de tissus : utilisez le **gentleMACS** et un **Pre-Separation Filter** pour filtrer à 30µm
- Pour une bonne dissociation de vos tissus (rate, foie, poumons, tumeurs, cerveau...), consultez notre site pour découvrir tous nos kits de dissociation: www.miltenyibiotec.com





MultiMACS Cell 24 - composants et consommables



- 1- ColumnSupport: Flexible Cell Separation
- 2- Touchscreen
- 3- Elution Chamber with lids
- 4- MACS Elution Station and Elution Chamber
- 5- Single-Column Adapter
- 6- MultiMACS 5mL Tube Rack
- 7- Multi-24 Column Block
- 8- Column Blanks: Colonnes vides

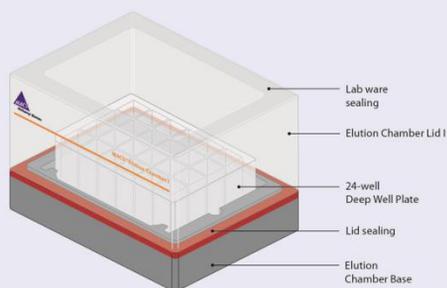


MultiMACS Cell 24 - composants et consommables

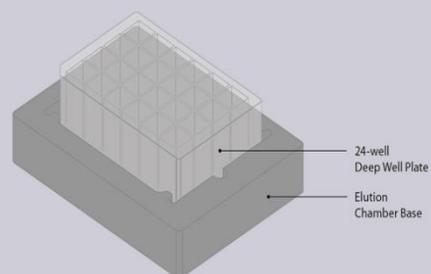


Lid I: Pour élution dans 24-well Deep Well Plate

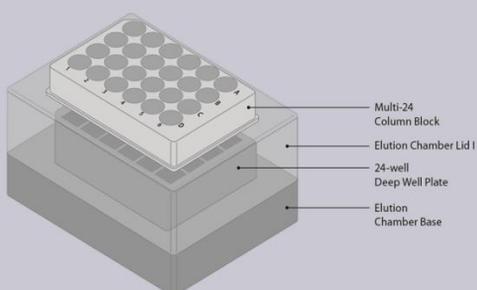
Lid II: Pour élution dans tubes 5mL avec le rack



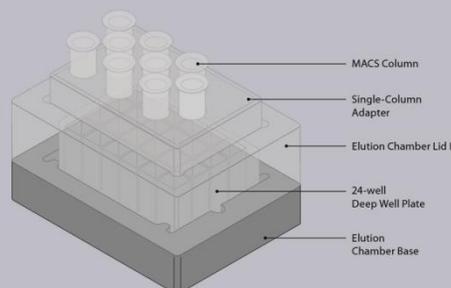
Chamber base , Lid I, Lid II



Elution Chamber base



Multi-24 Column Block into the Lid I



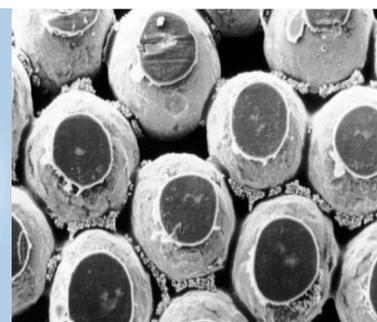
Single-Column Adapter, dans le lid I



MultiMACS Cell 24 Columns

Colonnes utilisables :

- Jusqu'à **9 échantillons** en parallèle avec des colonnes **LS / LD ou Whole Blood** et en utilisant le Single Column Adapter (SCA)
- Jusqu'à **24 échantillons** en parallèle avec le **Multi-24 Column Block**



La matrice des colonnes:

La structure ferromagnétique amplifie le champ magnétique et augmente la surface de contact avec les billes, ce qui augmente les rendements du tri cellulaire.

Capacités des colonnes:

Column	Nb max de cellules marquées	Nb max de cellules totales	Programme
Multi-24 Column Block (par colonne)	1×10^8	1×10^9	DEplete, POSSEL, POSSEL2
LS	1×10^8	1×10^9	DEplete, POSSEL_SCA, POSSEL2_SCA
LD	1×10^8	5×10^8	DEplete
Whole Blood Column	Jusqu'à 10mL	Jusqu'à 10mL	POSSEL_SCA, POSSEL2_SCA



MultiMACS Cell 24 - Programmation





MultiMACS Cell 24 - Protocoles de séparation

Les programmes:

- Il y a 5 protocoles prédéfinis sur le MultiMACS Cell 24 Plus Separator
- Suivant le protocole choisi, les échantillons pourront être triés soit avec le Multi-24 Column Block soit avec les colonnes manuelles en utilisant le Single-Column Adapter (SCA)

Programme de tri	Fraction de cellules d'intérêts	
	Cellules non marquées (fraction négative)	Cellules marquées magnétiquement (fraction positive)
DEplete	OUI	NON
POSSEL	NON	OUI
POSSEL2	OUI	OUI
POSSEL_SCA	NON	OUI
POSSEL2_SCA	OUI	OUI

- Les cellules d'intérêts seront éluées soit dans le 24-well Deep Well Plates soit dans des tubes 5mL.
- Suivant le programme, le nombre de 24-well Deep well plate à utiliser sera différent.

Programme	Fractions récupérées	Nombre de 24-well Deep Well Plates
DEplete	Tampon d'équilibration	2
	Cellules non marquées	
POSSEL, POSSEL_SCA	Tampon d'équilibration + cellules non marquées	2
	Fraction positive	
POSSEL2, POSSEL2_SCA	Tampon d'équilibration	3
	Cellules non marquées	
	Fraction positive	



MultiMACS Cell 24 - les protocoles

Les colonnes:

Suivant les colonnes utilisées, les volumes d'élution seront différents.

Il est important de respecter les volumes mentionnés dans le tableau ci-dessous pour:

- L'équilibration des colonnes
- Les lavages des colonnes pour l'élution des fractions négatives
- Les volumes de tampons pour l'élution des fractions positives

Column type	Equilibration Buffer	Wash buffer	Elution buffer
Multi-24 Column Block	1x2 mL	3x1 mL	1x1 mL
LS Column	1x3 mL	2x2 mL	1x4 mL
LD Column	1x2 mL	2x1 mL	1x3 mL
Whole Blood Column	1x3 mL	2x2 mL	1x4 mL*

* Pour les Whole Blood Column, utilisez le Elution Buffer fourni avec le kit.

- Allumez le MultiMACS en appuyant sur le bouton qui se trouve en bas du côté droit de l'appareil.
- Attendez que l'écran affiche le menu principal

ATTENTION: Ne pas placer de colonnes sur le MultiMACS, tant que l'écran n'affiche pas « INSERT COLUMNS »

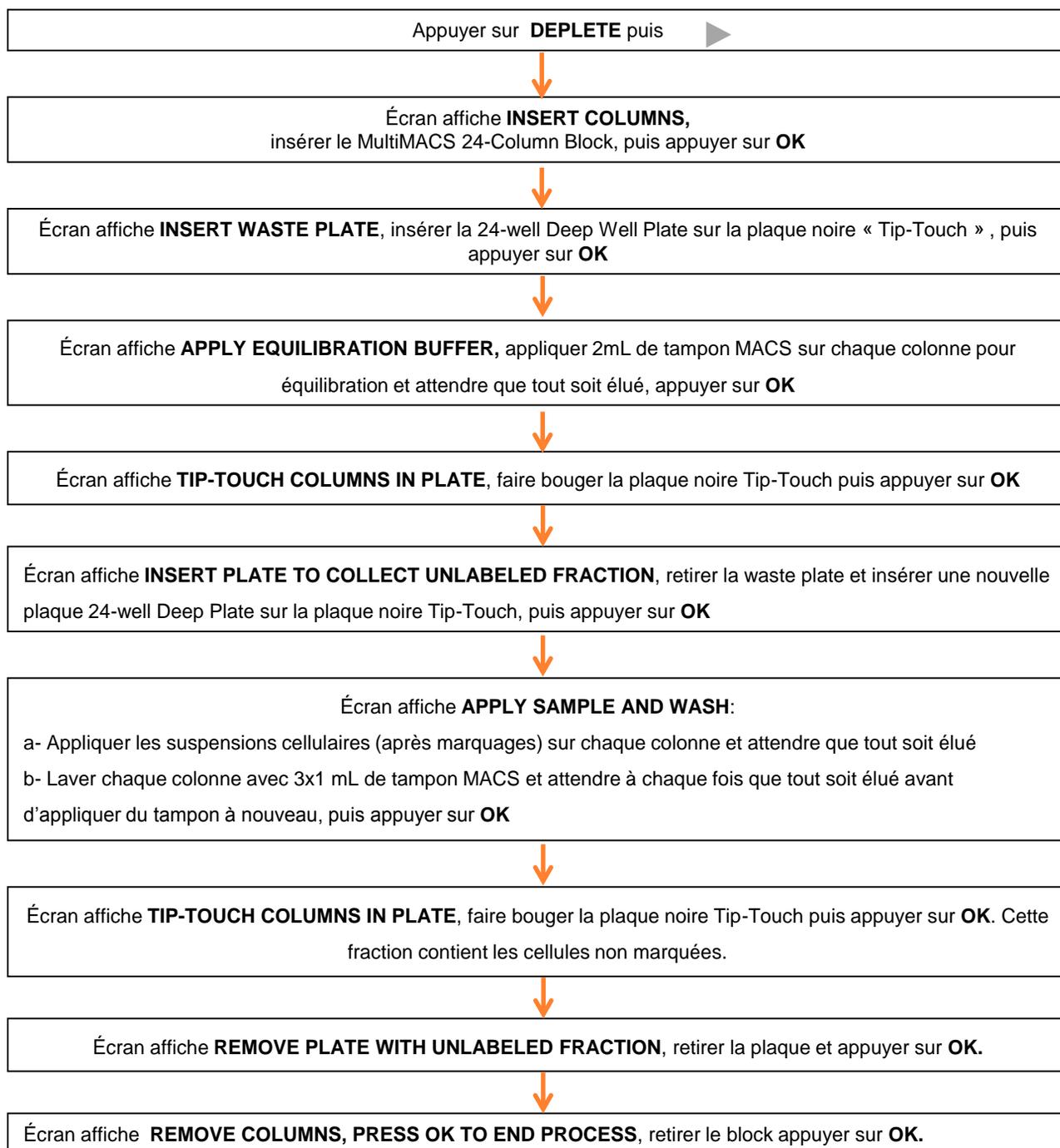


- Choisir le programme de séparation, suivant le tableau en page 8



MultiMACS Cell 24 - Les protocoles

Programme (1/5): Programme DEplete:





MultiMACS Cell 24 - Les protocoles

Programme (2/5): Programme POSSEL: Tris avec le Multi-24 Column Block

Si vous n'avez pas besoin de la fraction négative, utilisez ce programme.

Sélectionner le programme **POSSEL** puis ►

Écran affiche **INSERT COLUMNS**, insérer le MultiMACS 24-Column Block, appuyer sur **OK**

Écran affiche **INSERT WASTE PLATE**, insérer la 24-well Deep Well Plate sur la plaque noire « Tip-Touch », puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **APPLY EQUILIB. BUFFER, SAMPLE AND WASH:**

- a- Appliquer 2mL de tampon MACS sur chaque colonne pour équilibrage,
- b- Appliquer les suspensions cellulaires sur chaque colonne et attendre que tout soit élué
- c- Laver chaque colonne avec 3x1 mL de tampon MACS et attendre à chaque fois que tout soit élué avant d'appliquer du tampon à nouveau, puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **TIP-TOUCH COLUMNS IN PLATE**, faire bouger la plaque noire Tip-Touch puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **REMOVE PLATE. PLACE COLUMNS AND NEW PLATE IN ELUTION STATION:**

- a- Insérer une nouvelle 24-well Deep Well Plate sur la base de la chambre d'élué pour récolter les fractions positives
- b- Placer le Chamber Lid au dessus de la base (Figure page 5)
- c- Placer le Multi-24 Column Block dans la chambre d'élué. Appuyer sur **OK** pour appliquer la pression d'élué

Écran affiche **APPLY ELUTION BUFFER**, appliquer 1mL de tampon sur chaque colonne, élué et appuyer sur **OK**

Écran affiche **REMOVE PLATE AND COLUMNS. TOUCH OK TO END PROCESS**, tout retirer et appuyer sur **OK**



MultiMACS Cell 24 - Les protocoles

Programme (3/5): Programme POSSEL2: Tris avec le Multi-24 Column Block

Si vous avez besoin de la fraction négative, utilisez ce programme.

Sélectionner le programme **POSSEL2** puis ►

Écran affiche **INSERT COLUMNS**, insérer le MultiMACS 24-Column Block, appuyer sur **OK**

Écran affiche **INSERT WASTE PLATE**, insérer la 24-well Deep Well Plate sur la plaque noire « Tip-Touch », puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **APPLY EQUILIBRATION BUFFER**, appliquer 2mL de tampon MACS sur chaque colonne, attendre que tout soit élué puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **TIP-TOUCH COLUMNS IN PLATE**, faire bouger la plaque noire Tip-Touch puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **INSERT PLATE FOR UNLABELED FRACTION**, placer une nouvelle plaque 24-well Deep Plate sur la plaque noire Tip-Touch, puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **APPLY SAMPLE AND WASH:**

- a- Appliquer les suspensions cellulaires (après marquages) sur chaque colonne et attendre que tout soit élué
- b- Laver chaque colonne avec 3x1 mL de tampon MACS et attendre à chaque fois que tout soit élué, appuyer sur **OK**

Écran affiche **TIP-TOUCH COLUMNS IN PLATE**, faites bouger la plaque noire Tip-Touch puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **REMOVE PLATE. PLACE COLUMNS AND NEW PLATE IN ELUTION STATION:**

- a- Insérer 24-well Deep Well Plate neuve sur la base de la chambre d'élué pour récolter les fractions positives
- b- Placer le Chamber Lid au dessus de la base (Figure page 5)
- c- Placer le Multi-24 Column Block dans la chambre d'élué. Appuyer sur **OK** pour appliquer la pression d'élué

Écran affiche **APPLY ELUTION BUFFER**, appliquer 1mL de tampon sur chaque colonne, élué et appuyer sur **OK**



MultiMACS Cell 24 - Les protocoles

Programme (4/5): Programme **POSSEL_SCA**: Tris avec les colonnes manuelles

Si vous n'avez pas besoin de la fraction négative, utilisez ce programme.

Placer le Single-Column Adapter (SCA) VIDE sur le support transparent du MultiMACS
Sélectionner le programme **POSSEL_SCA** puis appuyer sur ►

Écran affiche **INSERT COLUMNS**, insérer les colonnes sur le Single-Column Adapter (SCA), si moins de 9 sont utilisées, placer des colonnes vides, appuyer sur **OK**

Écran affiche **INSERT WASTE PLATE**, insérer la 24-well Deep Well Plate sur la plaque noire « Tip-Touch », puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **APPLY EQUILIB. BUFFER , SAMPLE AND WASH:**

- a- Appliquer 3mL de tampon MACS sur chaque colonne pour équilibrage,
- b- Appliquer les suspensions cellulaires sur chaque colonne et attendre que tout soit élué. Si le volume > 5mL, il faudra l'appliquer en 2 fois, en utilisant la **MOVE BACK**, puis **OK**
- c- Laver chaque colonne avec 2x2 mL de tampon MACS et attendre à chaque fois que tout soit élué avant d'appliquer du tampon à nouveau, puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **TIP-TOUCH COLUMNS IN PLATE**, faites bouger la plaque noire Tip-Touch puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **REMOVE PLATE. PLACE COLUMNS AND NEW PLATE IN ELUTION STATION:**

- a- Insérer une nouvelle 24-well Deep Well Plate sur la base de la chambre d'éluion pour récolter les fractions positives
- b- Placer le Chamber Lid au dessus de la base (Figure page 5)
- c- Retirer le Single Column Adapter avec les colonnes du MultiMACS et le placer dans le Lid de la station. Appuyer sur **OK** et appliquer la pression d'éluion

Écran affiche **APPLY ELUTION BUFFER**, appliquer 4mL de tampon sur chaque colonne, élué et appuyer sur **OK**

Écran affiche **REMOVE PLATE AND COLUMNS. TOUCH OK TO END PROCESS**, tout retirer et appuyer sur **OK**



MultiMACS Cell 24 - Les protocoles

Programme (3/5): Programme **POSSEL2_SCA**: Tris avec les colonnes manuelles

Si vous avez besoin de la fraction négative, utilisez ce programme.

Sélectionner le programme **POSSEL2** puis ►

Écran affiche **INSERT COLUMNS**, insérer le MultiMACS 24-Column Block, appuyer sur **OK**

Écran affiche **INSERT WASTE PLATE**, insérer la 24-well Deep Well Plate sur la plaque noire « Tip-Touch », puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **APPLY EQUILIBRATION BUFFER**, appliquer 2mL de tampon MACS sur chaque colonne, attendre que tout soit élué puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **TIP-TOUCH COLUMNS IN PLATE**, faire bouger la plaque noire Tip-Touch puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **INSERT PLATE FOR UNLABELED FRACTION**, placer une nouvelle plaque 24-well Deep Plate sur la plaque noire Tip-Touch, puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **APPLY SAMPLE AND WASH:**

- a- Appliquer les suspensions cellulaires (après marquages) sur chaque colonne et attendre que tout soit élué
- b- Laver chaque colonne avec 3x1 mL de tampon MACS et attendre à chaque fois que tout soit élué, appuyer sur **OK**

Écran affiche **TIP-TOUCH COLUMNS IN PLATE**, faire bouger la plaque noire Tip-Touch puis appuyer sur **OK**

Écran affiche **REMOVE PLATE. PLACE COLUMNS AND NEW PLATE IN ELUTION STATION:**

- a- Insérer 24-well Deep Well Plate neuve sur la base de la chambre d'élué pour récolter les fractions positives
- b- Placer le Chamber Lid au dessus de la base (Figure page 5)
- c- Placer le Multi-24 Column Block dans la chambre d'élué. Appuyer sur **OK** pour appliquer la pression d'élué

Écran affiche **APPLY ELUTION BUFFER**, appliquer 4mL de tampon sur chaque colonne, élué et appuyer sur **OK**



Préparer le MultiMACS pour le transport

1. Il est important de suivre cette procédure avant d'emballer le MultiMACS pour le transporter
2. Allumez l'instrument, attendez jusqu'à ce que l'écran principal s'affiche
3. Appuyez sur **SETUP**

PREFERENCES	←
SERVICE TOOLS	ESC

4. Appuyez sur **PREFERENCES**

SELECT PREF. CATEGORY:	←	^
EXCHANGE MAGNET	ESC	v

5. Descendez jusqu'à **LOCK UNIT FOR TRANSPORT**, puis appuyez dessus

SELECT PREF. CATEGORY:		^
LOCK UNIT FOR TRANSPORT	ESC	v

MULTIMACS SEP. IS READY FOR TRANSPORT. SWITCH DEVICE OFF

6. Quand le texte ci-dessus s'affiche, vous pourrez éteindre l'appareil et l'emballer pour le transport.



MACS Workflow



MACS® Sample Preparation



MACS® Cell Separation



MACS® Flow Cytometry



MACS® Cell Culture



MACSmolecular

