

EXCELLYSE I

Lysing solution, lyzační roztok, lyzačný roztok

Cat. No. / Kat. č.: ED7023

30 ml 150 (tests / testů / testov)

Cat. No. / Kat. č.: ED7024

100 ml 500 (tests / testů / testov)

ENGLISH

1. Intended use

The EXCELLYSE I lysing solution permits red blood cell lysis following antibody staining of human peripheral blood leukocytes. This solution is optimized for use with BD Biosciences flow cytometers. Other manufacturer's flow cytometer may also be used without considerable sample quality loss.

EXCELLYSE I lysing solution is appropriate for use with EXBIO single colour monoclonal antibodies and KOMBITEST™ reagents and may be used in both lyse/wash and lyse/no wash protocol.

2. Introduction

Leukocyte analysis and detection in peripheral blood requires elimination of interfering cells, mainly erythrocytes. So far, Ficoll density gradient method was used to separate leukocytes from whole blood. This method is rather time consuming and may lead to a loss of certain lymphocyte subsets. Direct blood sample staining followed by red blood cell lysis therefore takes place in clinical laboratories as a fast and accurate method for whole blood flow cytometry analysis. EXCELLYSE I lysing solution provides for excellent results. Erythrocytes are lysed with only minimum debris left and leukocytes are fixed keeping cell subsets well distinguished and keeping cell markers preserved.

3. Reagent provided

EXCELLYSE I lysing solution is a ready to use reagent provided as 30 ml or 100 ml package of proprietary buffered solution containing < 5 % formaldehyde. This quantity is sufficient for 150 or 500 tests respectively.

4. Storage

Store the EXCELLYSE I lysing solution at room temperature.

5. Precautions

- For research use only.
- Do not use after expiration date stamped on vial label.
- Do not use if any discoloration or precipitation occurs.
- Do not freeze.
- Avoid contamination of the reagent.
- Any non-performance of lysing protocol may produce false results.

- The reagent contains < 5% formaldehyde which is toxic and a suspected carcinogen. It may be allergenic. Avoid any contact with skin, eyes, mucous membranes and clothing. Appropriate care should be taken.
- Blood samples are considered as potentially infectious and must be handled with care. Avoid all contact of the sample with the skin, eyes and mucosa.

6. Necessary material not supplied

Material necessary for collection of peripheral blood, test tubes for blood sample staining (e.g. 12 × 75 mm), automatic pipettes with disposable tips, vortex mixer, centrifuge, phosphate buffered saline (PBS), deionized water, appropriate fluorescent-dye-labeled primary/secondary antibody, flow cytometer.

7. Lyse/wash blood lysing protocol

1. Collect peripheral blood in a sterile tube with an anticoagulant (e.g. Heparin, EDTA).
2. Follow manufacturer's instructions for whole blood antibody staining.
3. Add 200 µl of EXCELLYSE I lysing solution per 100 µl of whole blood. Mix the tube with a vortex mixer.
4. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
5. Add 3-4 ml of deionized water to the tube and incubate for about 5-10 minutes, until the blurry blood sample solution gets clear.
6. Centrifuge the tube for 5 minutes at 300 g.
7. Remove supernatant and resuspend pellet with 0.3 – 0.5 ml of PBS.
8. Analyze the sample immediately using flow cytometer or store the sample at 2-8 °C in the dark and analyze within 24 hours. No further cell fixation is required.

8. Lyse/no wash blood lysing protocol

1. Collect peripheral blood in a sterile tube with an anticoagulant (e.g. Heparin, EDTA).
2. Follow instructions for whole blood antibody staining.
3. Add 200 µl of EXCELLYSE I lysing solution per 100 µl of whole blood. Mix the tube with a vortex mixer.
4. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
5. Add 1 ml of deionized water to the tube, mix well, and incubate for about 5-10 minutes, until the blurry blood sample solution gets clear.
6. Analyze the sample immediately using flow cytometer or store the sample at 2-8°C in the dark and analyze within 24 hours. No further cell fixation is required.

9. Limitations

- Flow cytometer may produce false results if the device has not been aligned and maintained appropriately.
- Data may be incorrectly interpreted if fluorescent signals were compensated wrongly or if gates were positioned inaccurately.
- Blood samples from abnormal patients may exhibit abnormal values of positive cells.
- Red blood cells from abnormal patients may be resistant to lysis using lysing solutions.
- In case of hyperleukocytose sample, it is recommended to dilute blood sample with PBS to obtain leukocyte density approximately 5×10^6 leukocytes/ml.
- Blood samples should be stained and analyzed within 24 hours from the blood collection.

ČESKY

1. Použití

EXCELLYSE I lyzační roztok umožňuje lyzi červených krvinek po značení leukocytů v lidské periferní krvi. Tento lyzační roztok byl optimalizován pro použití s průtokovými cytometry BD Biosciences, ale může být použit i pro měření s cytometry jiných výrobců.

EXCELLYSE I lyzační roztok je vhodný pro použití se značenými protilátkami EXBIO včetně produktové řady KOMBITEST™ reagentů. Lyzační činidlo může být použito v rámci promývacího (lyse/wash) a nepromývacího (lyse/no wash) protokolu.

2. Úvod

Analýza a detekce leukocytů v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie vyžaduje odstranění červených krvinek – erytrocytů. Alternativně používaná metoda Ficollého dělení na základě hustoty, umožňující separaci leukocytů z plné krve, je časově náročná a dochází při ní ke ztrátám určitých populací lymfocytů. V klinických laboratořích nahrazuje tuto metodu přímé značení plné krve protilátkami, následované lyzí červených krvinek, které přináší rychlé a přesné výsledky. EXCELLYSE I lyzační roztok umožňuje dosáhnout výborných výsledků analýz krevních vzorků s minimálním množstvím zůstatkového debrisu. Lyzační roztok zároveň leukocyty fixuje, čímž zachová dobrou rozlišitelnost buněčných subpopulací a zároveň chrání buněčné struktury.

3. Popis reagentie

EXCELLYSE I lyzační roztok je připravený k okamžitému použití a je dodáván ve 30ml a 100ml balení. Toto množství postačuje na provedení 150 respektive 500 testů. Reagentie obsahuje < 5 % formaldehydu.

4. Skladování

EXCELLYSE I lyzační roztok skladujte při laboratorní teplotě.

5. Upozornění

- Lyzační roztok je určen pouze pro výzkumné účely.
- Nepoužívejte reagentii po uplynutí doby použitelnosti vyznačené na štítku lahvičky.
- Nepoužívejte reagentii v případě, že změní barvu, nebo se v jejím obsahu objeví precipitát.
- Obsah lahvičky nesmí zmrznout.
- Chraňte obsah lahvičky před kontaminací.
- Nedodržení postupu měření může ovlivnit výsledky testu.
- Reagentie obsahuje < 5 % formaldehydu, který je toxický a karcinogenní. Může být alergenní. Zabraňte kontaktu reagentie s pokožkou, očima, sliznicemi a oblečením.
- Krevní vzorky jsou považovány za potenciálně infekční materiál a proto s nimi musí být náležitě nakládáno. Vyvarujte se kontaktu vzorků s pokožkou, očima a sliznicemi.

6. Potřebné vybavení a materiál, který není dodáván

Nezbytný materiál pro odběr periferní krve, vhodné zkumavky pro barvení buněk (např. 12 × 75 mm), sada pipet s jednorázovými špičkami, centrifuga, vortex, pufr PBS, demineralizovaná voda, vhodné protilátky, průtokový cytometr.

7. Lyse/wash lyzační protokol

1. Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
2. Provedte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
3. Přidejte 200 µl EXCELLYSE I lyzačního roztoku na 100 µl plné krve a zkumavku promíchejte vortexem.
4. Inkubujte vzorek 10 minut v temnu při laboratorní teplotě.
5. Do zkumavky přidejte 3-4 ml demineralizované vody a vyčkejte přibližně 5-10 minut, dokud se vzorek nevyčechá.
6. Centrifugujte zkumavky 5 minut při 300 g.
7. Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 0,3-0,5 ml PBS.
8. Analyzujte vzorky ihned po obarvení pomocí průtokového cytometru, případně do 24 hod za předpokladu, že jsou uskladněné v temnu při 2-8 °C. Buňky není potřeba dále fixovat.

8. Lyse/no wash lyzační protokol

1. Odeberte periferní krev do sterilní odběrové zkumavky obsahující antikoagulant (např. Heparin, EDTA).
2. Provedte značení plné krve protilátkou podle doporučení výrobce protilátky.
3. Přidejte 200 µl EXCELLYSE I lyzačního roztoku na 100 µl plné krve a zkumavku promíchejte vortexem.
4. Inkubujte vzorek 10 minut v temnu při laboratorní teplotě.
5. Do zkumavky přidejte 1 ml demineralizované vody, promíchejte a vyčkejte přibližně 5-10 minut, dokud se vzorek nevyčechá.
6. Analyzujte vzorky ihned po obarvení pomocí průtokového cytometru, případně do 24 hod za předpokladu, že jsou uskladněné v temnu při 2-8 °C. Buňky není potřeba dále fixovat.

9. Omezení metody

- Průtokový cytometr může poskytovat špatné hodnoty, pokud není dobře seřízen a udržován.
- Data mohou být špatně interpretována, pokud jsou fluorescenční signály špatně kompenzované, případně pokud jsou regiony buněk špatně umístěné.
- Krevní vzorky od abnormálních pacientů mohou vykazovat abnormální hodnoty procent pozitivních buněk.
- Červené krvinky některých abnormálních pacientů mohou být rezistentní k lyzi pomocí lyzačních roztoků.
- V případě krevního vzorku s abnormálně vysokým počtem leukocytů je třeba vzorek naředit pomocí PBS na hodnotu kolem 5×10^6 leukocytů na ml.
- Krevní vzorky by neměly být skladovány déle než 24 hodin před barvením.

SLOVENSKY

1. Použitie

EXCELLYSE I lyzačný roztok umožňuje lýzu červených krviniek po označení leukocytov protilátkou v ľudskej periférnej krvi. Tento roztok je optimalizovaný pre použitie s prietokovými cytometrami BD Biosciences, ale môže byť použitý aj s prietokovým cytometrom od iného výrobcu, bez výraznej zmeny v nameraných hodnotách.

EXCELLYSE I lyzačný roztok je vhodný pre použitie s EXBIO označenými monoklonovými protilátkami vrátane produktovej rady KOMBITEST™ reagensí. Môže byť použitý v oboch procesoch lyzovania: protokol lyza/premytie (lyse/wash) a lyza/bez premytia (lyse/no wash).

2. Úvod

Analýza a detekcia leukocytov v ľudskej periférnej krvi si vyžaduje odstránenie neanalyzovaných buniek - erytrocytov. Alternatívne používaná metóda Ficollého oddeľovania na základe hustoty, umožňujúca separáciu leukocytov z plnej krvi, je časovo náročná a dochádza pri nej ku stratám buniek určitých populácií lymfocytov. V klinických laboratóriách nahrádza túto metódu priame značenie krvi protilátkou, nasledované lýzou červených krviniek a analýzou na prietokovom cytometri, ktorá je rýchla a presná. EXCELLYSE I lyzačný roztok umožňuje dosiahnuť výborné výsledky analyzovaných vzoriek lýzou erytrocytov s minimálnym množstvom zostatkového debrisu a fixáciou leukocytov, kedy sa zachovávajú jednotlivé bunkové „markery“ a bunkové populácie, ktoré sú od seba jednoznačne oddelené.

3. Popis reagensie

EXCELLYSE I lyzačný roztok je pripravený k použitiu, dodávaný ako 30ml a 100ml balenie tlmeneho roztoku, ktorý obsahuje < 5 % formaldehydu. Toto množstvo je postačujúce na vykonanie 150, resp. 500 testov.

4. Skladovanie

EXCELLYSE I lyzačný roztok skladujte pri laboratórnej teplote.

5. Upozornenie

- Určené pre výskumné účely.

- Nepoužívajte po uplynutí doby použiteľnosti vyznačenej na štítku fľaštičky.
- Roztok nepoužívajte v prípade, že zmení farbu alebo sa v jeho obsahu objaví precipitát.
- Obsah fľaštičky nesmie zmraznúť
- Zabráňte kontaminácii roztoku.
- Nedodržanie postupu merania môže ovplyvniť výsledky testu.
- Roztok obsahuje < 5 % formaldehydu, ktorý je toxický a karcinogénny. Môže byť alergizujúci. Zabráňte akémukoľvek kontaktu s kožou, očami, oblečením a sliznicou.
- Krvné vzorky sú považované za potenciálne infekčný materiál a preto sa s nimi musí zaobchádzať opatrne. Vyvarujte sa kontaktu vzoriek s pokožkou, očami a sliznicami.

6. Potrebné vybavenie a materiál, ktorý nie je dodávaný

Materiál potrebný na odber periférnej krvi, vhodné skúmavky pre značenie buniek (napr. 12 x 75 mm), sada pipiet s jednorázovými špičkami, centrifúga, vortex, PBS tlmivý roztok, demineralizovaná voda, vhodné protilátky, prietokový cytometer.

7. Lyse/wash lyzačný protokol

1. Odoberte periférnu krv do sterilnej odberovej skúmavky obsahujúcej antikoagulant (napr. Heparín, EDTA).
2. Pokračujte značením plnej krvi protilátkou podľa návodu od výrobcu protilátky.
3. Pridajte 200 µl EXCELLYSE I lyzačného roztoku na 100 µl plnej krvi a skúmavku premiešajte vortexom.
4. Inkubujte vzorku 10 minút v temne pri laboratórnej teplote.
5. Do skúmavky so vzorkou pridajte 3-4 ml demineralizovanej vody a inkubujte 5 minút, kým sa krvná zmes nevyčíri.
6. Centrifugujte skúmavku 5 minút pri 300 g.
7. Odsajte supernatant a resuspendujte bunky v 0,3 – 0,5 ml PBS.
8. Vzorky analyzujte na prietokovom cytometri ihneď po označení, najneskôr však do 24 hodín za predpokladu, že sú skladované v temne pri 2-8°C. Fixácia buniek nieje potrebná.

8. Lyse/no wash lyzačný protokol

1. Odoberte periférnu krv do sterilnej odberovej skúmavky obsahujúcej antikoagulant (napr. Heparín, EDTA).
2. Pokračujte značením plnej krvi protilátkou podľa návodu od výrobcu protilátky.
3. Pridajte 200 µl EXCELLYSE I lyzačného roztoku na 100 µl plnej krvi a skúmavku premiešajte vortexom.
4. Inkubujte vzorku 10 minút v temne pri laboratórnej teplote.
5. Do skúmavky so vzorkou pridajte 1 ml demineralizovanej vody, premiešajte a inkubujte 5-10 minút, kým sa krvná zmes nevyčíri.
6. Vzorky analyzujte na prietokovom cytometri ihneď po označení, najneskôr však do 24 hodín za predpokladu, že sú skladované v temne pri 2-8°C. Fixácia buniek nieje potrebná.

9. Obmedzenia metódy

- Prútokový cytometer môže poskytovať nepresné výsledky, ak nie je dobre nastavený a udržiavaný.
- Dáta môžu byť zle interpretované, ak sú fluorescenčné signály nedostatočne kompenzované alebo ak sú regióny buniek zle umiestnené.
- Krvné vzorky od abnormálnych pacientov môžu vykazovať abnormálne percentuálne hodnoty pozitívnych buniek.
- Červené krvinky niektorých abnormálnych pacientov môžu byť rezistentné voči lýze pomocou lyzačných roztokov.
- V prípade krvnej vzorky s abnormálne vysokým počtom leukocytov je potrebné vzorku nariediť pomocou PBS na hodnotu približne 5×10^6 leukocytov na ml.
- Krvné vzorky by nemali byť skladované dlhšie ako 24 hodín pred zameraním.

ENGLISH / ČESKY / SLOVENSKY

Scatter profile example / Příklad scattergramů / Príklad scattergramov

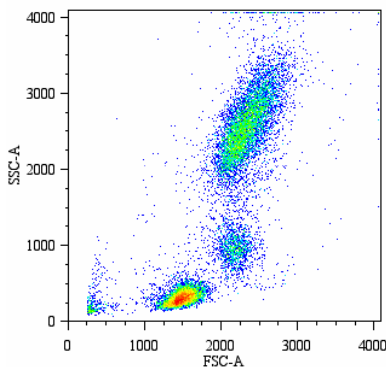


Fig. 1: Peripheral blood leukocytes dot-plot from lysed whole blood using EXCELLYSE I lysing solution, analyzed on BD FACSCanto™ cytometer.

Obr. 1: Dot-plot leukocytů z lyzované periferní krve, lyzováno pomocí EXCELLYSE I lyzačním roztokem, analyzováno pomocí průtokového cytometru BD FACSCanto™.

Obr. 1: Dot-plot leukocytov z lyzovanej periférnej plnej krvi, lyzovaných EXCELLYSE I lyzačným roztokom a analyzovaných pomocou BD FACSCanto™ cytometra.

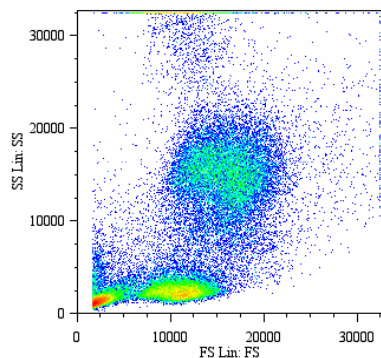


Fig. 2: Peripheral blood leukocytes dot-plot from lysed whole blood using EXCELLYSE I lysing solution, analyzed on Dako Cyan™ cytometer.

Obr. 2: Dot-plot leukocytů z lyzované periferní krve, lyzováno pomocí EXCELLYSE I lyzačním roztokem, analyzováno pomocí průtokového cytometru Dako Cyan™.

Obr. 2: Dot-plot leukocytov z lyzovanej periférnej plnej krvi, lyzovaných EXCELLYSE I lyzačným roztokom a analyzovaných pomocou Dako Cyan™ cytometra.

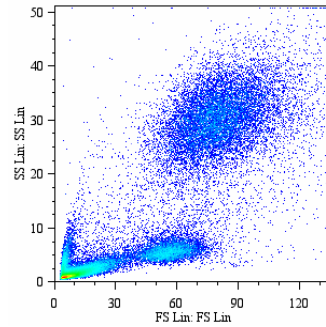


Fig. 3: Peripheral blood leukocytes dot-plot from lysed whole blood using EXCELLYSE I lysing solution, analyzed on Beckman Coulter FC-500 cytometer.

Obr. 3: Dot-plot leukocytů z lyzované periferní krve, lyzováno pomocí EXCELLYSE I lyzačním roztokem, analyzováno pomocí průtokového cytometru Beckman Coulter FC-500.

Obr. 3: Dot-plot leukocytov z lyzovanej periférnej plnej krvi, lyzovaných EXCELLYSE I lyzačným roztokom a analyzovaných pomocou Beckman Coulter FC-500 cytometra.

Explanation of symbols / Vysvětlení symbolů / Vysvetlenie symbolov

	Catalog number Katalogové číslo Katalógové číslo
	Manufacturer identification Výrobce Výrobca
	Consult the manual before use Viz návod k použití Viď návod na použitie
	Store within temperature limits Rozmezí skladovacích teplot Rozmedzie skladovacích teplôt
	Batch code Číslo šarže
	Use by Použitelné do Použiteľné do

Manufacturer / Výrobce / Výrobca

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 366
252 42 Vestec, Czech Republic
Tel: +420 261 090 666
Fax: +420 261 090 660
E-mail: orders@exbio.cz
<http://www.exbio.cz>

Trademarks / Registrované názvy

BD FACSCanto™ is a registered trademark of BD Biosciences and Company.

Dako Cyan™ is a registered trademark of Beckman Coulter Company.