

exbio

EXCELLYSE Live

100 ml | Kat. č. ED7068

RUO








Nepoužívat pro diagnostické a terapeutické procedury.

Technický list (CS)

Verze: ED7068_TDS_v5_CS

Datum vydání: 06-03-2024

Symbole použité k označení produktu

RUO	Pouze pro výzkumné účely		Pozor
	Výrobce	CONC 10x	Koncentrovaný roztok (10x)
	Čtěte návod k použití	CONTENTS	Obsah
REF	Katalogové číslo		
LOT	Kód dávky		
	Použití do data		
	Omezení teploty		
	Chránit před slunečním zářením		
	Chránit před vlhkem		

Popis produktu

Lyzační roztok EXCELLYSE Live umožňuje lyzi červených krvinek po značení leukocytů v lidské periferní krvi.

Analýza a detekce leukocytů v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie vyžaduje odstranění červených krvinek – erytrocytů. Alternativně používaná metoda Ficollového dělení na základě hustoty, umožňující separaci leukocytů z plné krve, je časově náročná a dochází při ní ke ztrátám určitých buněčných populací. V klinických laboratořích nahrazuje tuto metodu přímé značení plné krve protilátkami, následované lyzí červených krvinek, které přináší rychlé a přesné výsledky.

Lyzační roztok EXCELLYSE Live umožňuje lyzi červených krvinek, neobsahuje fixační činidlo a ponechává membránu leukocytů neporušenou. Tento lyzační roztok je optimalizován pro použití se značenými protilátkami EXBIO včetně reagensů produktové řady KOMBITEST. Lyzační činidlo může být použito v protokolu s promytím (lyse/wash) anebo protokolu bez promytí buněk (lyse/no wash).

Specifikace

EXCELLYSE Live (10× koncentrovaný roztok). Před použitím naředte deionizovanou vodou (1 díl koncentrovaného roztoku a 9 dílů deionizované vody). Vždy připravte čerstvý.

Poskytované materiály

Obsah

Produkt EXCELLYSE Live vystačí k lyzi 500 krevních vzorků a je dodáván ve formátu:

1 láhev (100 ml) obsahující 10× koncentrovaný roztok.

Nutné, ale neposkytované materiály

Testovací zkumavky s kulatým dnem (12 x 75 mm)

Deionizovaná voda

Fosfátový pufr (1× PBS), pH 7,4 (0,2 g/l KH_2PO_4 , 1,42 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 8,0 g/l NaCl, 0,2 g/l KCl)

Vhodné primární/sekundární protilátky značené fluorescenční značkou

Nutná zařízení

Automatická pipeta s jednorázovými špičkami (100 μl – 500 μl) pro pipetování vzorků a 1× PBS

Dávkovač kapalin nebo pipeta s jednorázovými špičkami (1,0 ml – 3,0 ml) pro

dávkování lyzačního roztoku

Odměrné válce pro měření objemu deionizované vody a činidla EXCELLYSE Live k přípravě lyzačního roztoku v jeho pracovní koncentraci (1x)

Vortex

Centrifuga

Průtokový cytometr

Skladování a manipulace

Skladujte při teplotě 2-8 °C.

Chraňte před přímým slunečním světlem.

Nezamrazujte.

Informace o stabilitě po prvním otevření a době použitelnosti po prvním otevření, spolu s podmínkami skladování a stabilitou pracovních roztoků (v případě potřeby) naleznete v části Postup (Příprava reagensí).

Výstrahy, opatření a omezení

GHS klasifikace nebezpečnosti

VÝSTRAHA: EXCELLYSE Live (ED7068) obsahuje chlorid amonný (č. 12125-02-9) v koncentracích klasifikovaných jako nebezpečné.

H věty	H302 Zdraví škodlivý při požití. H319 Způsobuje vážné podráždění očí.
---------------	--

Úplné informace o rizicích, která představují chemické látky a směsi obsažené v tomto výrobku a o tom, jak s nimi zacházet a jak je likvidovat, naleznete v Bezpečnostním listu (SDS), který je k dispozici na www.exbio.cz.

Biologické riziko

Lidské biologické vzorky, krevní vzorky a jakékoliv materiály, které s nimi přicházejí do kontaktu, jsou vždy považovány za infekční.

Používejte osobní ochranné a bezpečnostní pomůcky, abyste zabránili kontaktu s kůží, očima a sliznicemi.

Dodržujte všechny platné zákony, předpisy a postupy pro manipulaci a likvidaci infekčních materiálů.

Projevy znehodnocení prostředku

Normální vzhled dodané reagensie je čirá kapalina. Nepoužívejte, pokud pozorujete jakoukoli změnu vzhledu, např. zákal nebo známky precipitace.

Omezení použití

Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti uvedené na štítcích výrobku.

Vzorek

Použijte žilní periferní krev odebranou do zkumavky klasifikované jako zdravotnický prostředek s antikoagulantem EDTA nebo Heparin.

Odebraný vzorek krve musí být před barvením a lýzou uchováván v odběrové zkumavce při pokojové teplotě. Neuchovávejte v chladničce.

Postup

Příprava reagensů

Před použitím vytemperujte činidlo na pokojovou teplotu.

Naředte 10× koncentrovaný lyzační roztok na pracovní roztok deionizovanou vodou (1 objem koncentrovaného roztoku a 9 objemů deionizované vody).

Po prvním otevření si činidlo zachovává své funkční charakteristiky až do data expirace, pokud je skladováno za uvedených podmínek v původní primární nádobě.

Čerstvě naředěný lyzační roztok (1×) je stabilní po dobu 1 dne, pokud je skladován při pokojové teplotě.

Příprava nutných, ale neposkytovaných materiálů

Před použitím vytemperujte deionizovanou vodu a 1× PBS na pokojovou teplotu.

Lyse/no wash lyzační protokol

1. Označte každou testovací zkumavku (12 x 75 mm) s kulatým dnem identifikačním údajem vzorku.
2. Při značení plné krve dodržujte pokyny výrobce protilátky.
3. Pipetujte 2,0 ml naředěného lyzačního roztoku na 100 µl plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 5-10 minut při pokojové teplotě, dokud nedojde k vyčeření krevního vzorku.
5. Obarvený vzorek ihned měřte na průtokovém cytometru. V případě, že obarvený vzorek nebude okamžitě změřen, uchovávejte v temnu při 2-8 °C a analyzujte do 24 hodin. Vzorová data jsou zobrazena na obrázcích 1 a 2.

Lyse/wash lyzační protokol

1. Označte každou testovací zkumavku (12 x 75 mm) s kulatým dnem identifikačním údajem vzorku.
2. Při značení plné krve dodržujte pokyny výrobce protilátky.
3. Pipetujte 2,0 ml naředěného lyzačního roztoku na 100 μ l plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 5-10 minut při pokojové teplotě, dokud nedojde k vyčeření krevního vzorku.
5. Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
6. Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment v 0,2 – 0,5 ml 1 \times PBS.
7. Obarvený vzorek ihned měřte průtokovým cytometrem. V případě, že obarvený vzorek nebude okamžitě změřen, uchovávejte v temnu při 2-8 °C a analyzujte do 24 hodin.
8. Fixujte buňky v případě, že vzorek musí být uchováván po dobu delší než **2 hodiny**. Nefixované buňky v čase mění svůj tvar. Po fixaci ztrácejí buňky životnost. Vzorová data jsou zobrazena na obrázcích 3 a 4.

Analýza průtokovým cytometrem

Průtokový cytometr vybraný k použití s produktem EXCELLYSE Live musí být rutinně kalibrován pomocí fluorescenčních mikrokuliček podle pokynů výrobce cytometru, aby byla zajištěna stabilní citlivost detektorů.

Při nesprávné údržbě může průtokový cytometr poskytovat falešné výsledky.

V sekci Nutná zařízení jsou uvedeny potřebné specifikace cytometru pro lasery a fluorescenční detektory podle excitačních a emisních charakteristik fluorochromů.

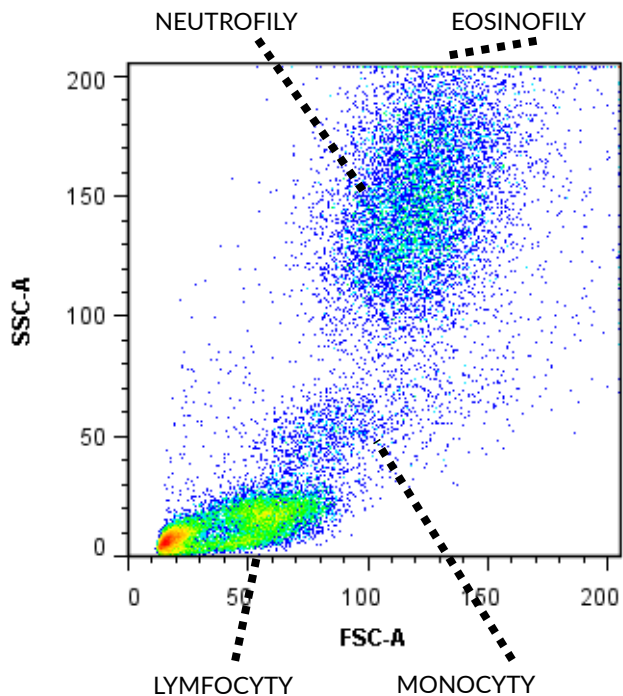
Před analýzou obarveného vzorku nastavte napětí na požadovaných fluorescenčních detektorech. Napětí na fotonásobiči by mělo být nastaveno dostatečně vysoko, aby minimum negativních událostí bylo zaznamenáno v nultém kanálu na ose fluorescence. Napětí na fotonásobiči by také nemělo překročit hodnoty, při kterých jsou pozitivní události natlačeny k pravé ose.

Kompenzujte fluorescenční signály mezi detektory před nebo po sběru dat. Pokud jsou fluorescenční signály nesprávně kompenzovány nebo pokud jsou regiony (gates) umístěny nepřesně, mohou být data nesprávně interpretována.

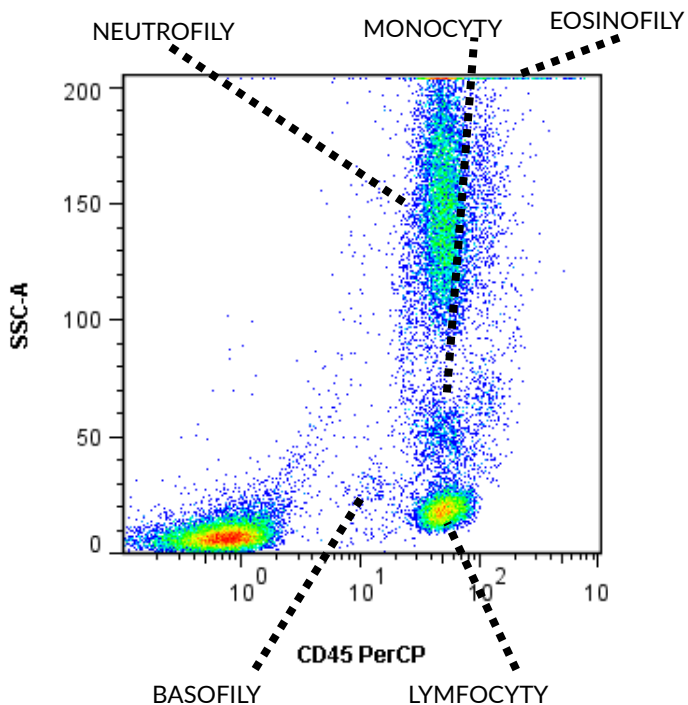
Pro analýzu naměřených dat je možné použít software vyvinutý výrobcem cytometru nebo software určený pro offline analýzu cytometrických dat (např. FlowJo™, VenturiOne®, Infinicyt™).

Reprezentativní data

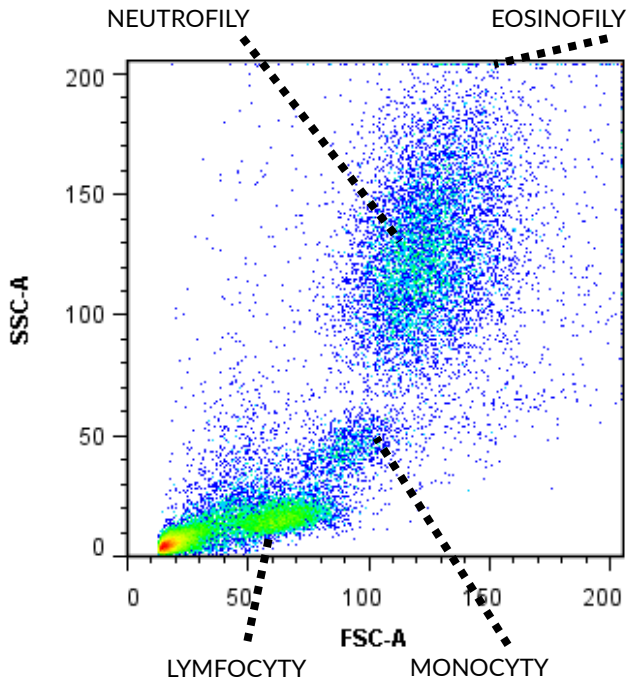
Obrázek 1 Dvourozměrný graf se zvýrazněním hustoty událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE Live protokolem Lyse/no wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II



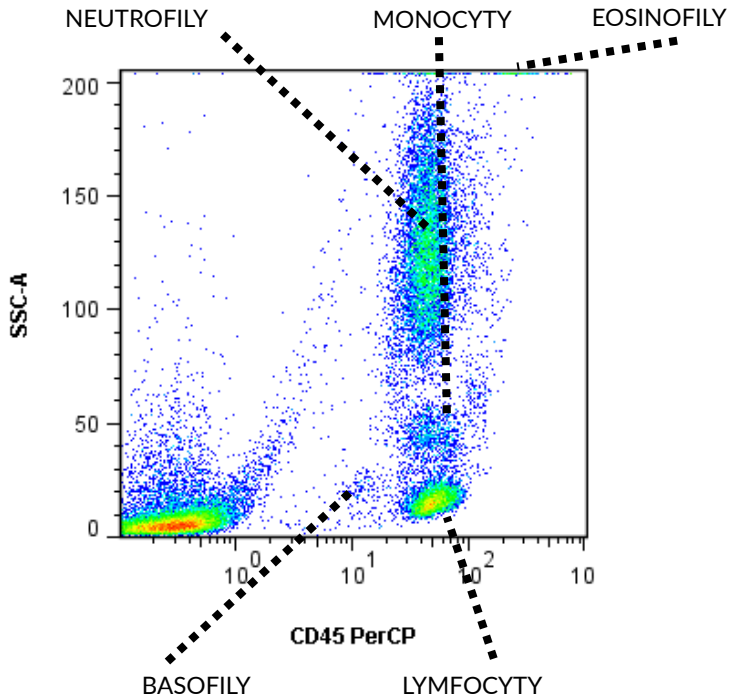
Obrázek 2 Profil značení plné krve obarvené pomocí protilátky anti-CD45 PerCP, zpracované podle protokolu Lyse/no wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II



Obrázek 3 Dvourozměrný graf se zvýrazněním hustoty událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE Live protokolem Lyse/wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II



Obrázek 4 Profil značení plné krve obarvené pomocí protilátky anti-CD45 PerCP, zpracované podle protokolu Lyse/wash a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II



Rušivé látky a omezení

Wash protokol vykazuje nižší výtěžnost WBC kvůli centrifugaci a odstraňování supernatantu.

Použití vakuové aspirace k odstranění supernatantu může způsobit nepředvídatelnou ztrátu buněk a kolísání výtěžnosti bílých krvinek.

Odkazy

N/A

Ochranné známky

BD FACSCanto™ II a FlowJo™ jsou registrované ochranné známky firmy Becton, Dickinson a Company, VenturiOne® je registrovaná ochranná známka firmy Applied Cytometry, Infinicyt™ je registrovaná ochranná známka firmy Cytognos S.L..

Historie revizí

Verze 5, ED7068_TDS_v5

Uspořádání TDS bylo změněno.

Výrobce

EXBIO Praha, a.s.

Nad Safinou II 341

25250 Vestec

Czech Republic

Kontaktní informace

info@exbio.cz

technical@exbio.cz

orders@exbio.cz

www.exbio.cz

POZNÁMKA: Jakákoli vážná událost, která se vyskytla v souvislosti s produktem, musí být oznámena výrobcí a místnímu příslušnému úřadu.