

exbio

EXCELLYSE XPerm 100 testů | Kat. č. ED7397

RU0

Nepoužívat pro diagnostické a terapeutické procedury.

Technický list (CS)
Verze: ED7397_TDS_v4_CS
Datum vydání: 25-06-2024

Symbody použité k označení produktu

RU0	Pouze pro výzkumné účely	CONTENTS	Obsah
	Výrobce		
	Čtěte návod k použití		
REF	Katalogové číslo		
LOT	Kód dávky		
	Použití do data		
	Omezení teploty		
	Chránit před slunečním zářením		
	Chránit před vlhkem		

Popis produktu

EXCELLYSE XPerm je sada dvou roztoků určená pro lýzu červených krvinek a fixaci bílých krvinek společně s permeabilizací cytoplazmatických membrán při přípravě biologických vzorků z lidské periferní krve pro analýzu v průtokovém cytometru.

Specifikace

Roztok XPerm Solution A je pufrovaný roztok s fixativem určený pro fixaci bílých krvinek ve vzorku periferní krve.

Roztok XPerm Solution B je pufrovaný roztok s detergentem určený pro permeabilizaci cytoplazmatických membrán a potlačení nespecifických interakcí během intracelulárního barvení vzorků periferní krve, které byly zafixovány roztokem XPerm Solution A a lyzovány deionizovanou vodou.

Poskytované materiály

Obsah

Produkt EXCELLYSE XPerm vystačí k lyzi a permeabilizaci 100 krevních vzorků a je dodáván ve formátu:

XPerm Solution A, 1 x 25 ml

XPerm Solution B, 1 x 25 ml

Nutné, ale neposkytované materiály

Testovací zkušavky s kulatým dnem (12 x 75 mm)

Deionizovaná voda

Fosfátový pufr (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)

Fosfátový pufr (1X PBS) s 1% formaldehydem

Vhodné primární/sekundární protilátky značené fluorescenční značkou

Nutná zařízení

Automatická pipeta s jednorázovými špičkami (100 μl – 500 μl) pro pipetování vzorků, roztoků XPerm a PBS s 1% formaldehydem

Dávkovač kapalin nebo pipeta s jednorázovými špičkami (1,0 ml – 3,0 ml) pro dávkování deionizované vody a PBS

Vortex

Centrifuga

Průtokový cytometr

Skladování a manipulace

Skladujte při teplotě 2-25 °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 XPerm Solution A (ED7397-1) obsahuje formaldehyd (č. 50-00-0) a metanol (č. 67-56-1) v koncentracích klasifikovaných jako nebezpečné.

Prvky označení	Signální slovo
	Nebezpečí
	
H-věty	H302 Zdraví škodlivý při požití. H315 Dráždí kůži. H317 Může vyvolat alergickou kožní reakci. H319 Způsobuje vážné podráždění očí. H335 Může způsobit podráždění dýchacích cest. H341 Podezření na genetické poškození. H350 Může vyvolat rakovinu.
P-věty	P201 Před použitím si obzvláště pozorně přečtěte speciální instrukce. P264 Po manipulaci důkladně omyjte ruce a zasažené části těla. P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle. P301+P312 PŘI POŽITÍ: Necítíte-li se dobře, volejte lékaře. P302+P352 PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla. P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P308+P313 PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P333+P313 Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362+P364 Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.

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 dodaných reagensů 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.

Postup

Příprava reagensů

Před použitím vytemperujte činidla na laboratorní teplotu.

Po prvním otevření si reagentie zachovávají své funkční charakteristiky až do data expirace, pokud jsou skladovány za uvedených podmínek v originálních primárních obalech.

Příprava nutných, ale neposkytovaných materiálů

Před použitím vytemperujte deionizovanou vodu a 1X PBS na laboratorní teplotu.

Barvení intracelulárních antigenů

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 250 µl **XPerm Solution A** na 100 µl plné lidské krve. Obsah zkumavky promíchejte na vortexu.
4. Inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě.
5. Pipetujte 3 ml deionizované vody do zkumavky, dobře promíchejte a inkubujte po dobu 10 minut při laboratorní teplotě.
6. Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300x g.
7. Odstraňte supernatant a pipetujte 250 µl **XPerm Solution B** do zkumavky.
8. Přidejte dostatečné množství fluorescenčně označených protilátek určených pro intracelulární barvení. Promíchejte obsah zkumavky na vortexu.

9. Inkubujte po dobu 15-30 minut v temnu při laboratorní teplotě.
10. Promyjte buňky: pipetujte 2 ml PBS do zkumavky, centrifugujte buňky po dobu 5 minut při 300x g a odstraňte supernatant.
11. Resuspendujte sediment v 0,2 - 0,3 ml PBS s 1 % formaldehydem.
12. 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.

Analýza průtokovým cytometrem

Průtokový cytometr vybraný k použití s produktem EXCELLYSE XPerm 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.

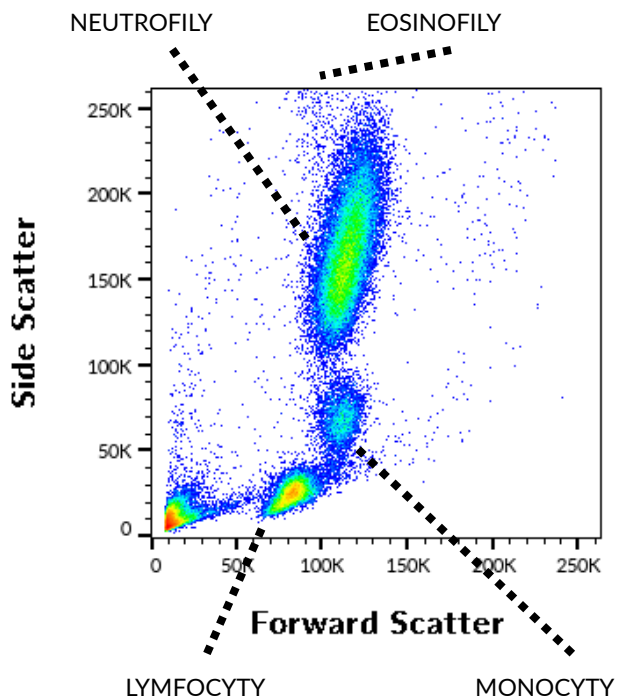
Před analýzou obarveného vzorku nastavte napětí na požadovaných fluorescenčních detektorech. Napětí na fotonásobiči by mělo být nastaveno dostatečně vysoko, aby minimum negativních událostí bylo zaznamenáno v nultém kanálu na ose fluorescence. Napětí na fotonásobiči by také nemělo překročit hodnoty,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

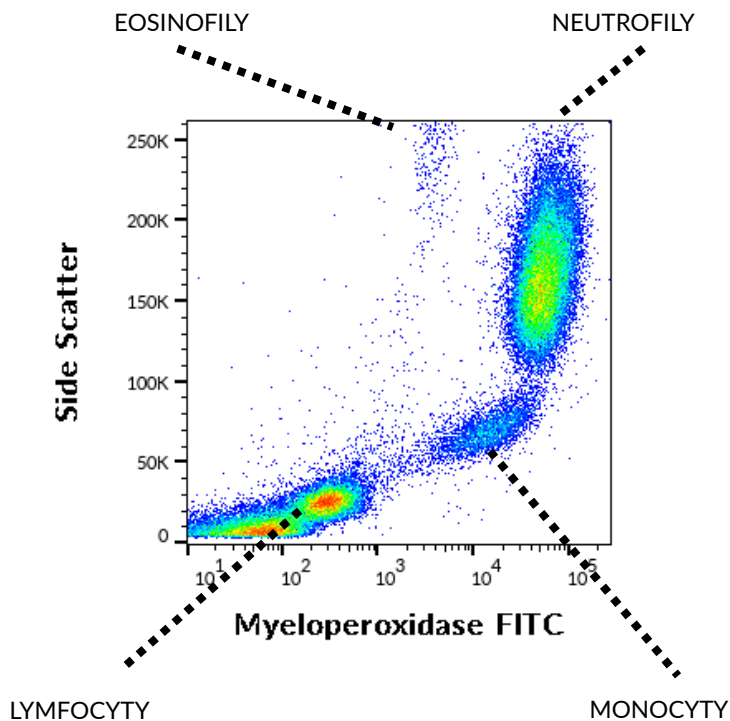
Pro analýzu naměřených dat je možné použít software vyvinutý výrobcem cytometru nebo software určený pro offline analýzu cytometrických dat.

Reprezentativní data

Obrázek 1 Dvourozměrný graf se zvýrazněním denzity událostí ukazuje rozdělení leukocytů periferní krve zpracované EXCELLYSE XPerm a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.

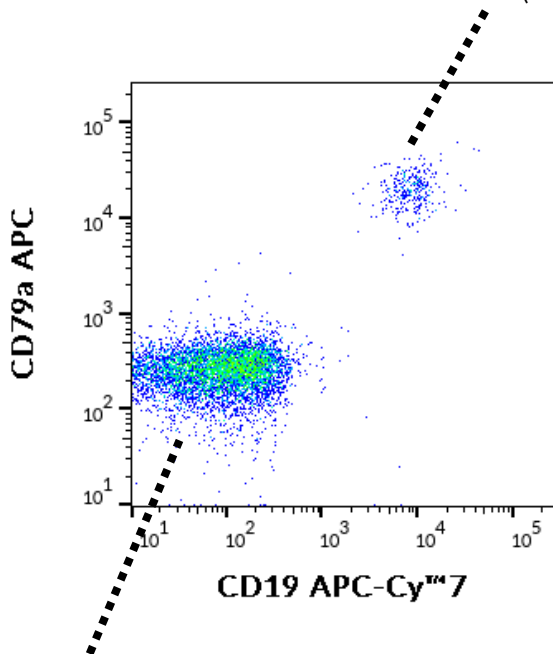


Obrázek 2 Profil značení plné krve zpracované EXCELLYSE XPerm, obarvené protilátkou proti myeloperoxidáze označené FITC a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.



Obrázek 3 Profil značení lymfocytů z plné krve zpracované EXCELLYSE XPerm, obarvené protilátkami anti-CD79a APC a anti-CD19 APC-Cy™7 a analyzované pomocí cytometru BD FACSCanto™ II.

CD19+CD79a+ DVOJITĚ POZITIVNÍ UDÁLOSTI (B-LYMFOCYTY)



CD19+CD79a+ DVOJITĚ NEGATIVNÍ UDÁLOSTI (NK- A T-LYMFOCYTY)

Odkazy

N/A

Použití ochranných známek třetích stran

BD FACSCanto™ II je registrovaná ochranná známka firmy Becton, Dickinson a Company. Cy™ a CyDye jsou registrované ochranné známky firmy Cytiva.

Historie revizí

Verze 4, ED7397_TDS_v4

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 výrobci a místnímu příslušnému úřadu.