

ПРОТОЧНЫЙ ЦИТОМЕТР FACSCALIBUR

Инструкция по эксплуатации

- Описание системы FACSCalibur и принципов ее работы.
- Включение и выключение прибора.
- Обслуживание прибора.



Handwritten signature and date: 2007

Рукоятка для поддержки пробирок.

Данная рукоятка поддерживает пробирку с образцом. Зажим имеет 3 позиции: центральное под пробиркой с образцом, влево и вправо от порта подачи пробы. Его основная функция – создавать вакуум в системе отсасывания капель. Вакуум создается, когда зажим находится в правом или левом положении и снимается, когда зажим переводится в центральное положение.

Система отсасывания капель.

Данная система состоит из вакуумного насоса и внешней оболочки иглы забора образца. Когда зажим, поддерживающий пробирку с пробой, находится в правом или левом положении, вакуумный насос активируется, удаляя жидкость с помощью обратного потока из иглы забора образца.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: Когда Вы помещаете пробирку в порт подачи пробы, Вы должны как можно скорее поставить зажим в центральное положение для предотвращения сбрасывания образца в резервуар для слива.

Станция для сортировки клеток (вишня сортинга).

ПРИМЕЧАНИЕ: данная опция используется только в приборах с установленной станцией для сортинга.

На рисунке 6 представлен модуль для сортировки.

Для сбора отсортированных клеток предусмотрены три конические пробирки объемом 50 мл. Вы можете установить 1-3 пробирки по своему усмотрению.

Сортировочная трубка.

Трубка предназначена для передачи отсортированного материала из проточной ячейки в 50-мл пробирки. Эта трубка не видна из-за станции для сортировки, но при промывке эта трубка также промывается. Промывка осуществляется нажатием специальной кнопки.

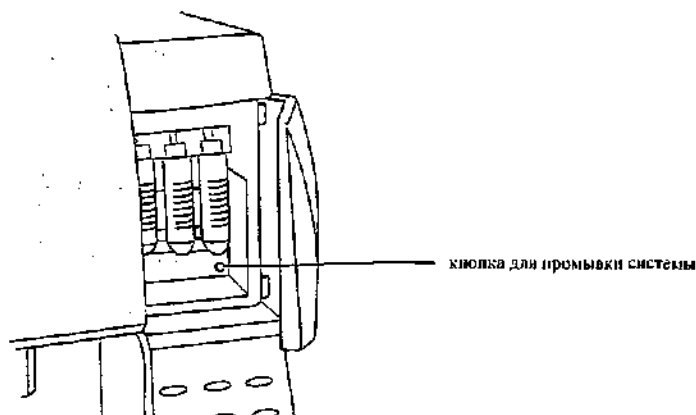


Рисунок 6. Модуль для сортировки.

6. Установить скорость потока III, затем установить в порт подачи пробы пробирку, содержащую 3 мл FACSClean. Нажмите кнопку RUN и промойте прибор в течение 20-30 минут.
7. Уберите пробирку из порта подачи пробы.
8. Повторите этапы с 4 по 6, используя дистиллированную воду. Замените резервуар с раствором хлорамина на резервуар, содержащий 1-2 литра дистиллированной воды. Установите в порт подачи пробы пробирку, содержащую 3 мл дистиллированной воды.
9. Установите в контейнер резервуар с проточной жидкостью и подсоедините проточный фильтр. Установите в порт подачи пробы пробирку, содержащую 1 мл дистиллированной воды.
10. Нажмите кнопку STANDBY.

На данном этапе Вы можете выключить прибор, если Вы закончили проводить измерение всех образцов. В порту подачи пробы должна остаться пробирка с дистиллированной водой для предотвращения образования солевых отложений на игле.

ПРИМЕЧАНИЕ: Если Вы будете использовать прибор для проведения измерений, Вам необходимо провести процедуры по промыванию проточной системы, описанные в разделе 2.2. Если Вы не будете использовать прибор в течение недели или более длительного срока, проведите вышеописанные процедуры и оставьте в порту подачи пробы пробирку с дистиллированной водой до тех пор, пока Вы снова не будете использовать прибор.

3.2. Периодические процедуры.

Некоторые компоненты прибора не нуждаются в регулярном обслуживании, но время от времени их нужно проверять и промывать (при необходимости). Это зависит от того, как часто Вы используете прибор.

Водяной фильтр.

Водяной фильтр расположен между резервуаром для проточной жидкости и резервуаром для слива и предназначен для фильтрования проточной жидкости, подаваемой из резервуара (рисунок 8). Когда на графике FSC vs SSC наблюдается увеличение количества дебриса, это может указывать на то, что фильтр необходимо заменить. Несмотря на то, что фильтр рекомендуется менять фильтр каждые 3-6 месяцев, этот срок зависит от частоты использования прибора и качества проточной жидкости. Другим признаком, указывающим на необходимость замены фильтра, является увеличение шумов по FSC в программе FACSComp.

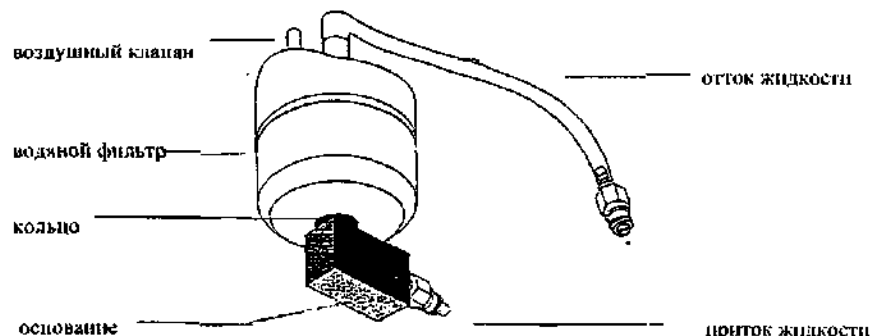


Рисунок 8. Водяной фильтр.

3. Эксплуатация и обслуживание прибора FACSCalibur.

3.1. Ежемесячные процедуры.

Данные процедуры необходимо выполнять по крайней мере раз в месяц или чаще, если Вы анализируете большое количество образцов или образцы, окрашенные такими красителями, как пропидиум йодид (PI), акридиновый оранжевый (AO) или тиазоловый оранжевый (TO).

1. Включите прибор FACSCalibur.
2. Достаньте из контейнера резервуар для проточной жидкости.
3. Отсоедините трубку водяного фильтра от SALINE FILTER, отсоединив клемму.
4. Присоедините трубку подачи жидкости (белая) резервуара с проточной жидкостью к клемме, обозначенной SALINE FILTER (рисунок 7).
Это альтернативный путь подсоединения проточного фильтра, который позволяет жидкости проходить из резервуара через трубку непосредственно в проточную ячейку и в затем в резервуар для слива.

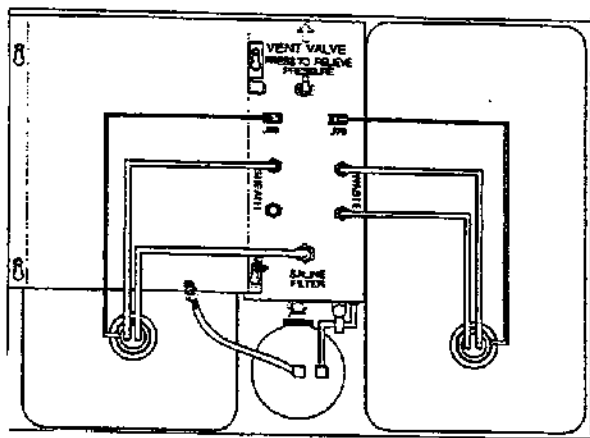


Рисунок 7. Альтернативный путь подключения проточного фильтра.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: Если Вы не отключили фильтр, то хлорокислота, проходящий через фильтр, может повредить фильтровальную бумагу, находящуюся внутри фильтра, и фильтр необходимо будет заменить.

5. Установите в контейнер вместо резервуара с проточной жидкостью запасной резервуар с 1-2 литрами раствора FACSClean.

2. Включение и выключение прибора.

2.1 Процедура включения прибора.

При проведении измерений включайте прибор перед включением компьютера. Иначе компьютер не сможет распознать присоединение прибора к системе. При анализе готовых файлов данных нет необходимости включать прибор.

1. Включите проточный цитометр FACSCalibur.

Кнопка включения прибора находится с правой стороны на корпусе прибора. После включения прибора кнопка управления скоростью потока LO загорается зеленым, а кнопка режима работы прибора STANDBY – оранжевым.

2. Включите компьютер.

3. Выдвиньте контейнер с резервуарами для жидкостей. Установите тумблер (VENT VALVE) по направлению стрелки.

Переключение тумблера в направлении, указанном стрелкой сбрасывает давление воздуха в резервуаре с проточной жидкостью.

4. Отсоедините трубку подачи жидкости (белая) и трубку подачи воздуха (синяя), нажав на соответствующие металлические защелки клапанов.

5. Отсоедините контакт датчика жидкости.

6. Снимите металлический кожух с резервуара.

7. Выньте резервуар для проточной жидкости, открутите крышку с датчиком жидкости, заполните резервуар проточной жидкостью на 3/4.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: Не заполняйте резервуар до максимальной отметки. Когда на полный резервуар подается давление, жидкость может попасть в трубку подачи воздуха, нарушая подачу давления.

Рекомендуемые проточные жидкости:

- FACS Flow (Becton Dickinson) (кат. №342003)
- Фосфатно-буферный раствор (Dulbecco без Ca^{2+} и Mg^{2+})

ПРИМЕЧАНИЕ: Если Вы готовите проточную жидкость сами, перед помещением раствора в прибор Вы должны прогнать его через 0,22 мкм фильтр.

8. Установите резервуар с проточной жидкостью в контейнер.

9. Установите металлический кожух.

10. Присоедините датчик уровня жидкости, а также трубки подачи жидкости и воздуха, защелкнув соответствующие клеммы (убедитесь, чтобы трубки не перегибались).

11. Включите тумблер в направлении «на себя» для подачи давления в резервуар. Убедитесь, что на резервуар с проточной жидкостью подано достаточное давление. Резервуар, находящийся под давлением, не перемещается под металлическим коробом.

12. Отсоедините трубку слива жидкости (оранжевая) и трубку подачи воздуха (белая) резервуара для слива от прибора, нажав на металлические клеммы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: Возьмите за правило опустошать канистру для слива жидкости, когда Вы наполняете резервуар с проточной жидкостью. Это предупреждает переполнение резервуара для слива. Следуйте лабораторным правилам: работайте в соответствующей лабораторной одежде и перчатках при удалении отработанной жидкости из резервуара.

13. Отсоедините контакт датчика уровня жидкости.

14. Выньте резервуар для слива, открутите крышку с датчиком жидкости и опустошите резервуар, обращаясь с жидкостью, как с потенциально инфекционным материалом, в соответствии с местными, федеральными и государственными инструкциями.

15. Налейте в резервуар для слива 400 мл неразбавленного раствора хлорамина – раствор FACSClean (кат. №3-40345). При заливании резервуара конечная концентрация хлорамина будет не менее 10%.

16. Установите резервуар для слива обратно в выдвижной контейнер.

17. Присоедините трубку слива жидкости, трубку подачи воздуха, датчик уровня жидкости, зашелкнув соответствующие клеммы (проверьте, чтобы трубки не перегибались).

18. Убедитесь, что внутри фильтра нет пузырьков воздуха.

Если пузырьки есть, осторожно постучите по фильтру для того, чтобы пузырьки вышли на поверхность. Откройте трубку, отпустив ролик зажима, для того, чтобы выпустить пузырьки в резервуар для слива. Верните ролик в первоначальное положение.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для удаления оставшихся пузырьков, отсоедините фильтр, нажав на клеммы, выньте его и обстучите со всех сторон до тех пор, пока все пузырьки не выйдут на поверхность. Присоедините фильтр, зашелкнув клеммы. Установите фильтр обратно. Откройте трубку, отпустив ролик зажима, для того, чтобы выпустить пузырьки в резервуар для слива. Верните ролик в первоначальное положение.

ПРИМЕЧАНИЕ: Прогрейте лазер в течение 5 минут после включения прибора перед проведением измерений.

2.2. Выключение прибора.

В конце каждого рабочего дня обязательно промойте прибор.

Для предупреждения засора шты забора пробы и устранения прилипания красящих веществ, которые могут вызвать помехи, ежедневно после работы промывайте систему 10% хлорамином через порт подачи пробы с последующей промывкой дистиллированной водой. Проводите данную процедуру немедленно после работы с вязкими образцами и такими красителями, как пропидиум йодид (PI), акридиновый оранжевый (AO) и тиазоловый оранжевый (TO).

Дезинфекция порта подачи пробы.

1. Переключите прибор в режим RUN, установите в порт подачи пробы пробирку, содержащую 3 мл раствора FACSClean, отведите зажим в сторону (выключится вакуум) и оставьте так на 1 минуту.

2. Установите зажим в центральное положение (вакуум отключится). Переключите скорость потока в режим III и промойте прибор в течение 5 минут.

Промывка порта подачи пробы.

1. Установите в порт подачи пробы пробирку, содержащую 3 мл дистиллированной воды, отведите зажим в сторону (выключится вакуум) и оставьте так на 1 минуту.
2. Установите зажим в центральное положение (вакуум отключится). Переключите скорость потока в режим III и промойте прибор в течение 5 минут.
3. Переключите прибор в режим **STANDBY**.
4. Установите в порт подачи пробы пробирку, содержащую не более 1 мл дистиллированной воды.

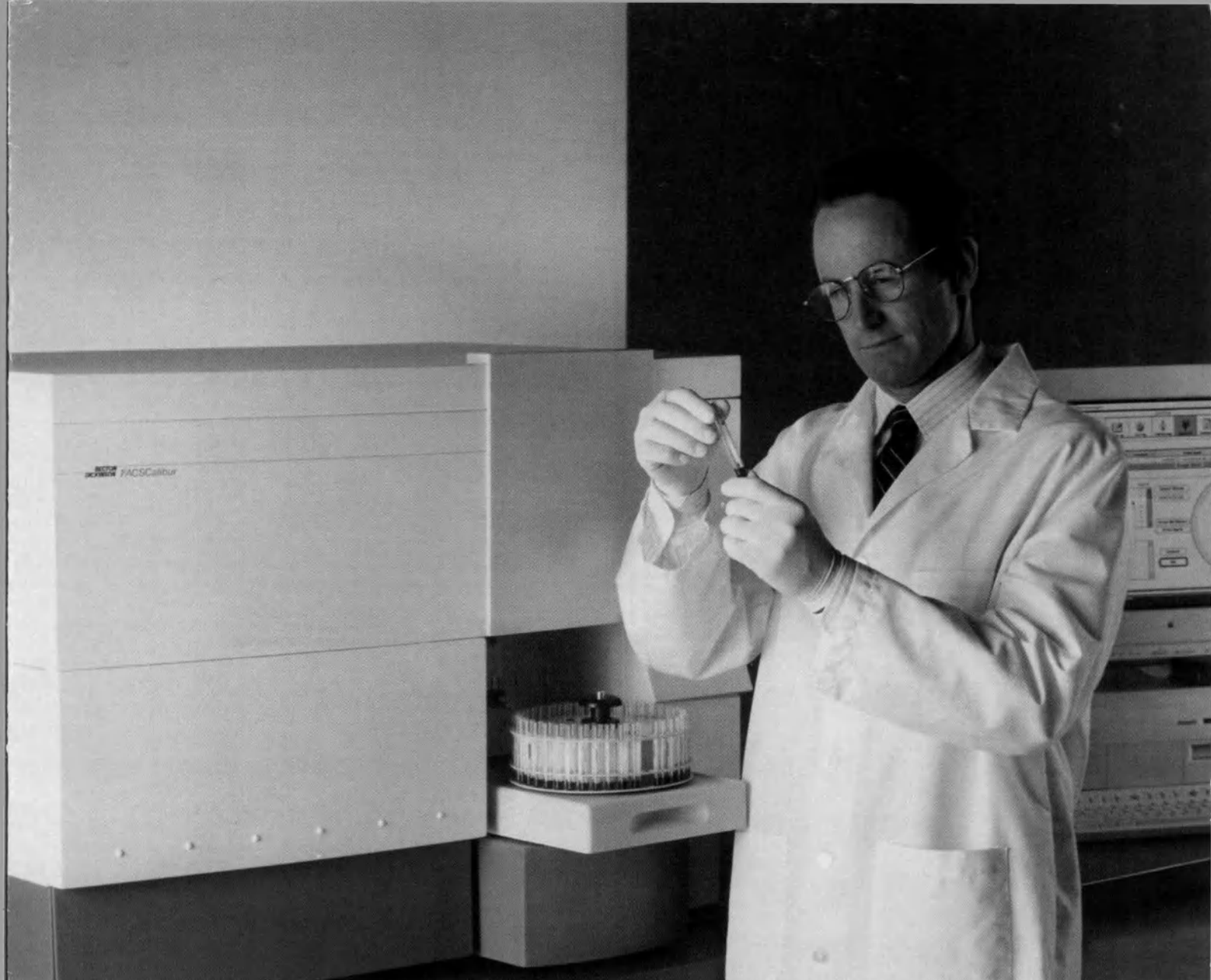
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ: В режиме **STANDBY** жидкость из резервуара подается обратным током в пробирку и может вызвать ее переполнение, если объем жидкости в пробирке больше 1 мл. Это может вывести из строя систему регуляции давления.

5. Если Вы закончили работу с пробами, выключите прибор через опцию **Shut Down menu Special**, затем отключите прибор из сети выключателем на корпусе прибора. Пробирка с дистиллированной водой должна остаться в порту подачи пробы для предотвращения образования солевых отложений в игле.

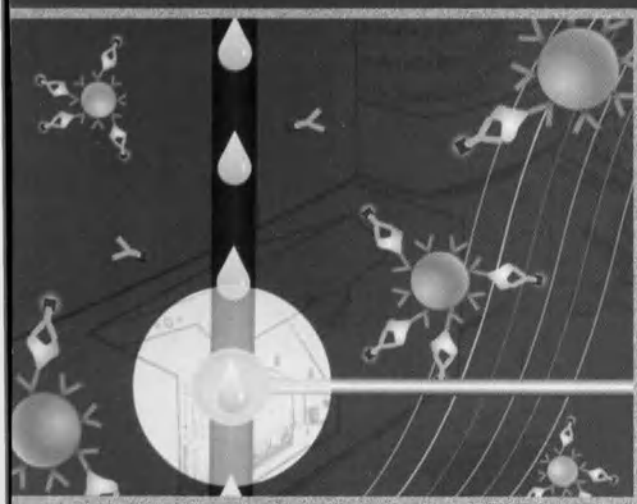
2.3. Выключение прибора при наличии опции автоматического загрузки (FACS Loader).

См. инструкцию к **FACS Loader Module**.





ПРОТОЧНЫЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТР FACSCalibur™



Проточный цитофлуориметр

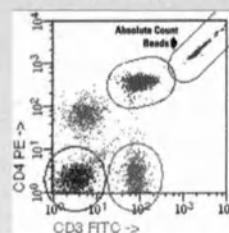
FACSCalibur™ является единственным компактным проточным цитофлуориметром, поддерживающим два режима работы: режим анализа состава клеточных популяций и режим сортировки для получения чистых субпопуляций клеток на основе их фенотипических характеристик.

Наличие специализированных клинических программ, простота выполнения калибровки, удобные инструменты обработки данных обеспечивают надежность результатов и высокую скорость анализа при проведении клинических исследований.

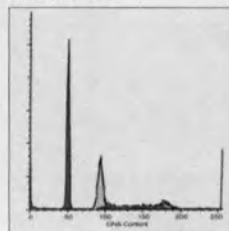
Вместе с тем конструкция прибора, гибкое программное обеспечение, дополнительные модули и специализированные программы, совместимость с широким спектром флуорохромов позволяют использовать прибор для решения широкого спектра исследовательских задач. Универсальное программное обеспечение CellQuest™ содержит обширный набор алгоритмов для анализа цитометрических данных и поддерживает выполнение самых современных методик исследований.



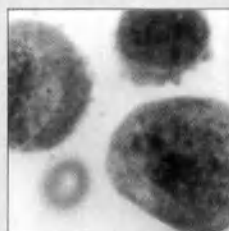
Определение параметров клеточного иммунитета



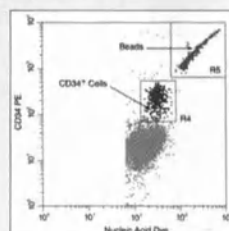
Мониторинг ВИЧ-инфицированных пациентов



Анализ клеточного цикла



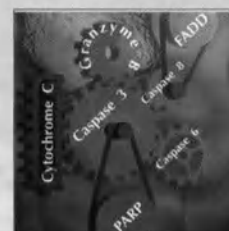
Онкогематологические исследования



Определение стволовых клеток CD34+



Сортировка клеток для культивирования, морфологических и молекулярно-биологических исследований



Исследования апоптоза

ПРОТОЧНЫЙ ЦИТО

Проточный цитофлуориметр FACSCalibur производства фирмы Becton Dickinson - универсальная система, предназначенная как для клинических научных исследований, основанных на анализе клеток.

Прибор позволяет проводить регистрацию до 6 параметров клеток, включая 4 параметра флуоресценции с использованием двухлазерной оптической системы. Позволяет оценивать распределение нескольких клеточных маркеров в одной пробе и предоставляет возможность для выбора различных флуоресцентных реагентов и их сочетаний при проведении исследований.

Автоматическая калибровка

Калибровка выполняется программой **FACSCalibur** с использованием калибровочных частиц **Calib**. Программа включает:

- проверку текущего состояния прибора;
- автоматическую установку оптимальных настроек измерения проб в каждом типе клинических исследований.

Стандартизация условий измерения гарантирует стабильность и объективность результатов.

Функция автоматической калибровки сокращает время подготовки прибора к измерениям, снижает нагрузку на оператора.

Высокая точность и чувствительность измерений

Двухлазерная конфигурация оптической системы гарантирует надежное разделение сигнала при многоцветных метках и позволяет использовать широкий спектр флуоресцентных меток.

Обеспечивается регистрация частиц с количеством флуорохрома от 500 эквивалентов FITC.

Оптический гель исключает потери сигнала при длительных световых импульсах от проточной кюветы.

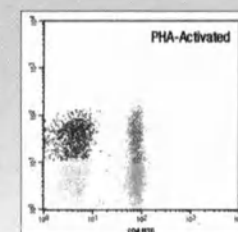
Клинические исследования: надежность результатов и простота в управлении прибором

Специализированные клинические программы настраиваются оператором на каждом этапе рутинных исследований параметров клеточного иммунитета.

Встроенные алгоритмы обработки иммунофенотипирования исключают субъективные ошибки оператора.

Готовые настройки для определения процентного абсолютного количества В-клеток, Т-хелперных, цитотоксических Т-клеток, NK-клеток. Поддерживается использование дополнительных пользовательских реагентов и настроек.

Подбор установок для измерений, обработка данных, создание и печать отчетов выполняются автоматически без вмешательства оператора.



Анализ функционального состояния клеток иммунной системы

ЦИТОФЛУОРИМЕТР FACSCalibur™

Calibur™

зеркальная
ких, так и
е свойств

оптических
ресценции
схемы, что
клеточных
широкие
есцентных
исследований.

SComp™ с
IBRITE™ и

строек для
исследований.

антирует

ает время
агрузку на

измерений

ы прибора
и работе с
ть широкий

личеством

и передаче

равлении

направляют
следований

данных
ые ошибки

ной доли и
селперов,
включение
и панелей.

ка данных,
тически без

Контроль достоверности результатов

Клиническое программное обеспечение содержит встроенные алгоритмы контроля качества исследований.

Проверка достоверности полученных результатов выполняется автоматически для каждого из исследованных образцов.

Обеспечивается идентификация ошибок, допущенных на этапах пробоподготовки, измерения, обработки данных.

Наличие системы контроля достоверности позволяет исключить субъективность в оценке результатов и сокращает количество повторных исследований.

Безопасность работы

Дезинфекция отработанного материала выполняется непосредственно в приборе без контакта с окружающей средой.

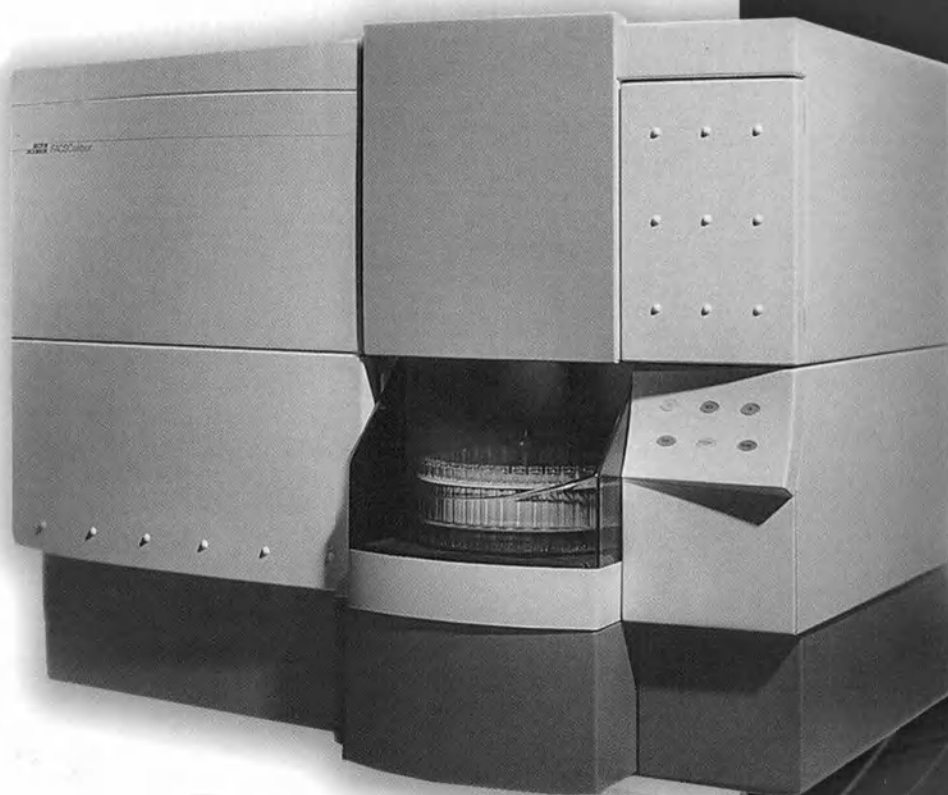
Модули для автоматизированной подготовки и загрузки проб позволяют исключить контакт оператора с анализируемыми образцами.

Возможность применения технологий подготовки проб, сокращающих количество пробирок в исследовании и исключающих контакты с потенциально инфекционным материалом: лизирование цельной крови, использование многоцветных реагентов.

Сервисное обслуживание

Квалифицированные специалисты компании "БиоЛайн" прилагают все усилия, чтобы обеспечить надежную и бесперебойную работу проточных цитофлуориметров Becton Dickinson, установленных у наших клиентов. Сертификация наших сервисных инженеров и специалистов по продукции фирмой-производителем гарантирует полноту и высокое качество наших услуг:

- гарантийное и послегарантийное обслуживание систем Becton Dickinson для проточной цитометрии, включая долгосрочные сервисные контракты;
- обучение на рабочем месте заказчика и консультативное сопровождение по методам работы с приборами, программным обеспечением и реагентами;
- модернизация проточных цитофлуориметров Becton Dickinson и обновление программного обеспечения.



Дополнительные модули для проточного цитофлуориметра FACSCalibur™

Полупроводниковый
лазер 635 нм

Дополнительный лазер позволяет включать в исследование возбуждаемые при 635 нм флуорохромы в качестве метки для 4-го параметра флуоресценции, обеспечивая высокую надежность разделения сигнала на разных каналах измерения.

Модуль для
сортировки клеток

Выделение чистых суспензий клеток на основе их фенотипических характеристик для культивирования, морфологических и молекулярно-биологических исследований (гибридизация *in situ*, ПЦР).

Автоматический модуль
для загрузки проб
FACSLoader

Модуль предназначен для автоматической подачи пробирок с готовыми пробами, что позволяет исключить ручные операции с пробирками при проведении измерений.

Автоматический модуль
BD Multiwell AutoSampler

Модуль для автоматической загрузки готовых проб непосредственно из 96- и 384-луночных планшетов исключая перенос в пробирки.

Автоматические модули
для подготовки проб
BD FACS Sample Processor
SP-1, SP-2

Автоматизация всего цикла подготовки проб по безотмывочной технологии (модуль SP-1), автоматизация подготовки проб, включая этап отмывки (модуль SP-2).

Клиническое программное обеспечение

SimulSET™

Иммунофенотипирование с использованием 2-хцветных реагентов. Готовые, не требующие операторской настройки алгоритмы для расчета параметров клеточного иммунитета. Проверка достоверности результатов.

MultiSET™

Иммунофенотипирование с использованием 3-х и 4-хцветных реагентов. Автоматический расчет процентных долей и абсолютного количества лимфоцитов различных субпопуляций. Контроль достоверности результатов.

ProCOUNT™

В сочетании с реагентами ProCOUNT™ обеспечивает максимальную точность подсчета стволовых клеток CD34+ при процедурах трансплантации костного мозга.

HLA-B27

Скрининг на наличие антигена HLA-B27.

Специализированное программное обеспечение

Paint-a-Gate™

Программа для анализа многопараметровых данных на основе цветовых определений субпопуляций клеток. Визуализация перекрывающихся субпопуляций на двухмерных графиках. Удобные средства анализа для онкогематологических исследований.

Attractors™

Программа для автоматического поиска субпопуляций клеток с учетом индивидуальных различий проб. Анализ многопараметровых данных.

ModFIT LT

Программное обеспечение для проведения исследований, основанных на измерении содержания ДНК (анализ клеточного цикла, поиск анеуплоидных субпопуляций, пролиферация клеток).

BioLine
www.bioline.ru

Официальный дистрибьютор BD Biosciences в России и Украине - компания "БиоЛайн"

Санкт-Петербург: 194044, Пироговская наб., д.21,
Тел. (812) 320-49-49, Факс (812) 320-49-40, e-mail: main@bioline.ru

Москва: Тел. (095) 777-27-82, Факс (095) 424-75-82

Новосибирск: Тел. (3832) 27-09-63, Факс (3832) 12-54-47

Ессентуки: Тел. 8-928-632-59-70

Екатеринбург: Тел. 8-922-222-02-79

АП "БиоЛайн Украина": Тел./Факс (044) 227-89-37, 227-89-19



Helping all people
live healthy lives

BD - Postfach 10 16 29 - 69006 Heidelberg - Germany

Letter of manufacturer

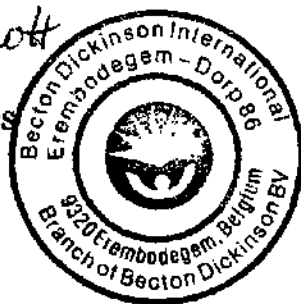
We, BD International, branch of Becton Dickinson B.V., Erembodegem-Dorp 86, 9320 Erembodegem, Belgium with sales offices at Tullastrasse 8-12, 69126 Heidelberg, Germany, herewith inform you of our interest to re-register BD FACSCaliburTM flow cytometer in the Russian Federation.

Medical device mentioned above is registered in USA, country of manufacturer stated in the FDA registration certificate № 1058-11-2005 subscribed at Dec 5, 2005.

We herewith confirm that BD FACSCaliburTM flow cytometer is not a measuring device⁽¹⁾ and so it is not registered as a measuring device neither in country of origin nor in other countries.

BD
Heidelberg, July 12, 2006

Ute Schott
Ute Schott
BD Biosciences



1 UR 1086 / 2006

Unterschriftsbeglaubigung

Ich beglaubige öffentlich die als eigenhändig vollzogen vor mir anerkannte
Unterschrift von

Frau Ute Schott, geb. am 26.05.1965,
geschäftlich: Tullastr. 8-12, 69126 Heidelberg,
- ausgewiesen durch Personalausweis -

Heidelberg, den 13.07.2006

Notariat 1 Heidelberg

Schmenger
Notar



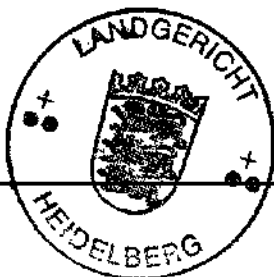
Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Land: Bundesrepublik Deutschland
Diese öffentliche Urkunde
2. ist unterschrieben von Notariatsdirektor **Schmenger**
3. in seiner Eigenschaft als Notar
beim Notariat Heidelberg
4. sie ist versehen mit dem Siegel/Stempel
des(der) Notariats Heidelberg

Bestätigt

5. in Heidelberg
6. am 13. Juli 2006
7. durch Präsident des Landgerichts Dr. von Dücker
8. unter Nr. E 910 a - 990/06
9. Siegel/Stempel
10. Unterschrift




Dr. von Dücker