



Инструкция по использованию пробирок PCV и устройства для измерения объема осажденных клеток “easy read” производства TPP

Инструкция

Пробирки PCV предназначены для определения биомассы в клеточных суспензиях, выраженного как объем осажденных клеток.

- Тщательно перемешайте клеточную суспензию в биореакторе ТьюбСпин®.
- Для сбора прилипших клеток, пипетируйте вверх и вниз после трипсинизации чтобы хорошо разбить сгустки клеток.
- Возьмите образец 200-1000 мкл хорошо перемешанной клеточной суспензии и влейте в пробирку PCV.
- Центрифугируйте образец 1 минуту при 2500 gх (5000 оборотов/мин.) в микроцентрифуге. (Мы рекомендуем использовать центрифугу с бакет-ротором для пробирок 1,5-2 мл. Альтернатива: можно поместить PCV-пробирки в центрифужную пробирку с коническим дном на 15 мл и центрифугировать их в соответствующем роторе, а также можно использовать угловой ротор.)
- При центрифугировании в капилляре пробирки PCV образуется клеточный осадок – используйте его для измерения. Клеточный осадок нельзя извлечь из капилляра для других целей.
- Вы можете измерить объем осажденных клеток прямо в пробирке PCV, используя модификацию пробирки с градуировкой. Результаты измерения: мкл клеточной массы/ мл суспензии. Точность измерения 5%.

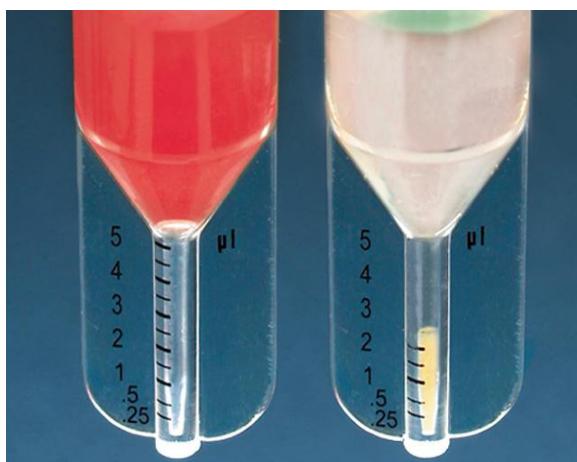


Рис. 1.

- Для более точного измерения клеточной массы в пробирке PCV используйте измерительное устройство «easy read».

Измерение

1. Поместите пробирку PCV со сформированным осадком в устройство «easy read»



Рис. 2.

2. Поместите линейку устройства строго горизонтально на рабочей поверхности. (Шкала прибора от 0 до 5 мкл. Цена деления 0,025 мкл.)
3. Двигая линзу прибора с пробиркой PCV по линейке (вправо/влево) добейтесь того, чтобы осадок клеточной массы в капилляре сравнялся с линейкой. Увеличительная линза облегчает выставление.

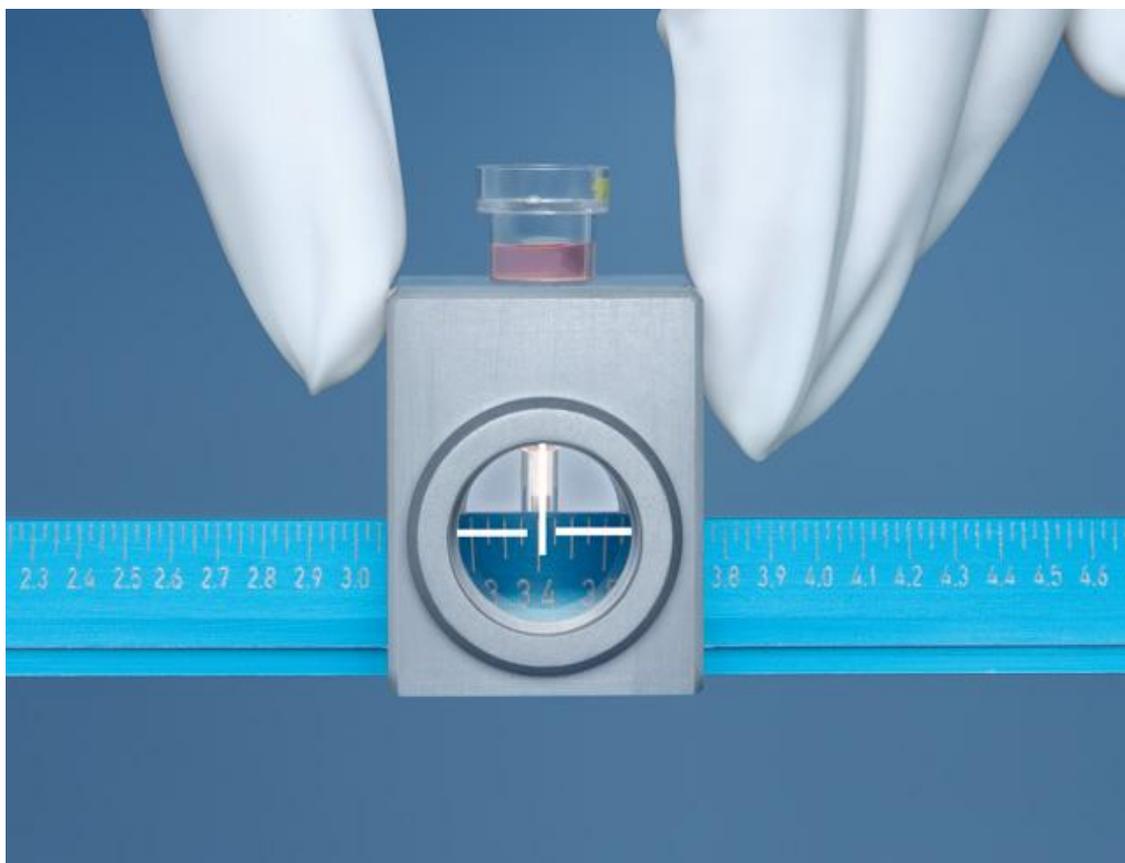


Рис. 3.

4. После выставления линзы запишите значение, которое отображается в прицеле линзы. Вы получите объем осажденной клеточной массы в 1 мл клеточной суспензии. (Например: на рис.3. объем осажденных клеток: 3,41 мкл/мл или 0,341%).

Точность измерения на устройстве «easy read»:

$$0,025\text{мкл (цена деления)}/5\text{мкл (шкала прибора)}*100\% = 0,5\%.$$

Объем осажденных клеток во многих случаях может использоваться как самостоятельный параметр. Однако, если Вы предпочитаете использовать плотность клеток, (т. е. кол-во клеток/мл), необходимо провести первое параллельное определение количества клеток с помощью двух различных способов.

Расчет плотности клеток

- а) Определите кол-во клеток в 1 мл клеточной суспензии путем подсчета клеток в камере Горяева (гемоцитометре).
- б) Определите объем осажденных клеток в 1 мл того же образца клеточной суспензии на приборе «easy read».
- в) Разделите число клеток/мл (а) на объем осажденных клеток в мкл/мл (б) для того, чтобы получить количество клеток в 1 мкл клеточного осадка.

- d) Используйте полученный коэффициент пересчета для следующих определений в работе с той же клеточной линией. Для работы с другим типом клеток необходимо провести снова в начале работы параллельный подсчет двумя разными методами для определения соответствующего коэффициента пересчета.

Пример:

Ручной подсчет клеток на гемоцитометре дал результат 1598300 клеток/мл (а), объем осажденных клеток определен с помощью «easy read» 2,5 мкл/мл (b). Значит каждый мкл осадка содержит 639320 клеток (с).

Советы и рекомендации

- Пробирка PCV обеспечивает возможность быстрого, простого, воспроизводимого и надежного измерения объема клеток, служащего альтернативой неавтоматическому методу подсчета. Этот метод более быстрый и точный (погрешность менее 5%, с использованием прибора «easy read» 0,5%). Пробирки PCV позволяют определять объем осажденных клеток (Packed Cell Volume - PCV) в клеточной суспензии и получить в результате измерения верные данные по таким параметрам, как содержание белка, количество клеток, метаболическая активность и др.
- Образцы с высокой клеточной плотностью не требуют разбавления для уменьшения их объема. С другими подобными образцами следует обращаться соответственно.
- При работе с бактериями необходимо подобрать необходимые параметры, например, увеличить скорость центрифугирования, использовать меньший объем и т.д.
- Для повышения точности измерения более предпочтительно использовать микроцентрифуги с колебательными роторами (осадок клеток в капилляре пробирки PCV будет в этом случае горизонтальный), однако довольно точные результаты можно также получить используя и угловые роторы. Пробирки PCV совместимы с роторами большинства производителей.

Техническая информация

Материалы, пробирки PCV

Крышка – полиэтилен (PE)

Пробирка – полистирол (PS)

Параметры	87005	87007	87008 (крышка)
Градуйрованный объем, мкл	0.1 – 0.5	-	-
Длина, мм	43	43	-
Диаметр, мм	10.5	10.5	13.5
Макс. центробежное ускорение (xg)	2500	2500	2500

Материалы, устройство «easy read»

Линейка, камера — алюминий

Линза — стекло

Параметры	87010
Шкала, мкл	0.00– 5.00
Цена деления, мкл	0.025
Размеры линейки, мм	320 x 15 x 13.5
Размеры линзы, мм	30 x 33 x 38