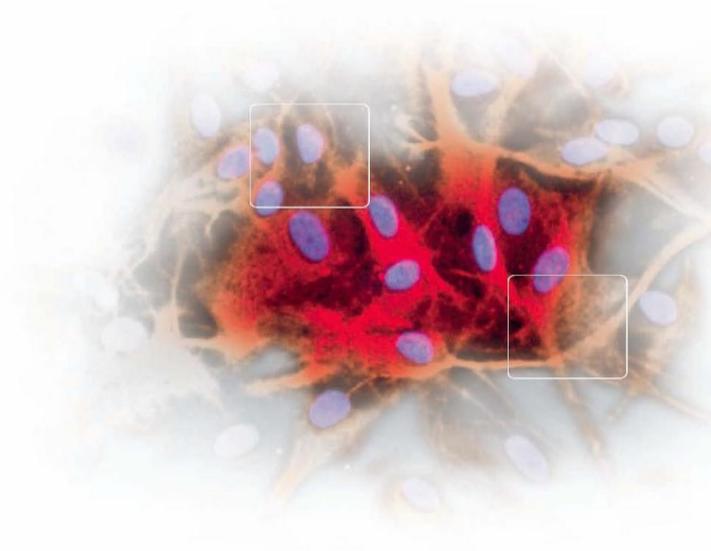


Продукция для клеточных технологий

- Культуральные среды
- Белки внеклеточного матрикса
- Реагенты для диссоциации клеток
- Замораживающие среды
- Планшеты со вставками



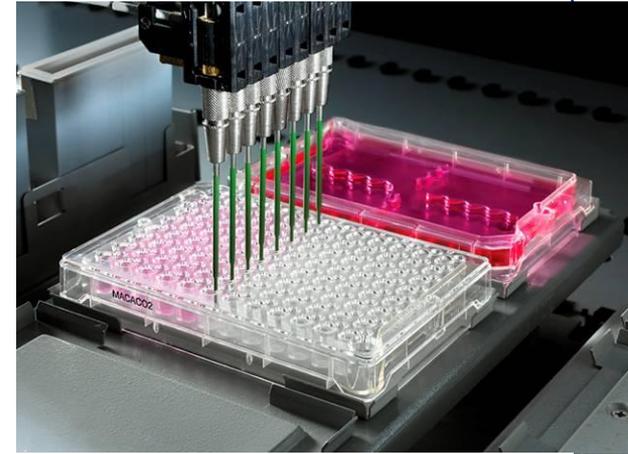
Реагенты для диссоциации клеток

Линия реагентов для ферментной и неферментной диссоциации клеток – начиная от традиционного трипсина и заканчивая растворами **Accutase™** и **Accumax™**, обеспечивающих мягкое и эффективное отделение клеток.

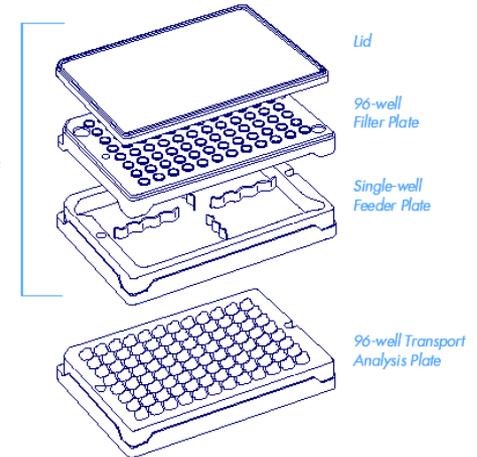
Accutase™ - запатентованная смесь коллагенолитических и протеолитических ферментов для отделения клеток от пластика

Accumax™ - смесь ферментов для диссоциации агглютинированных клеток.

Культивирование клеток на мембране

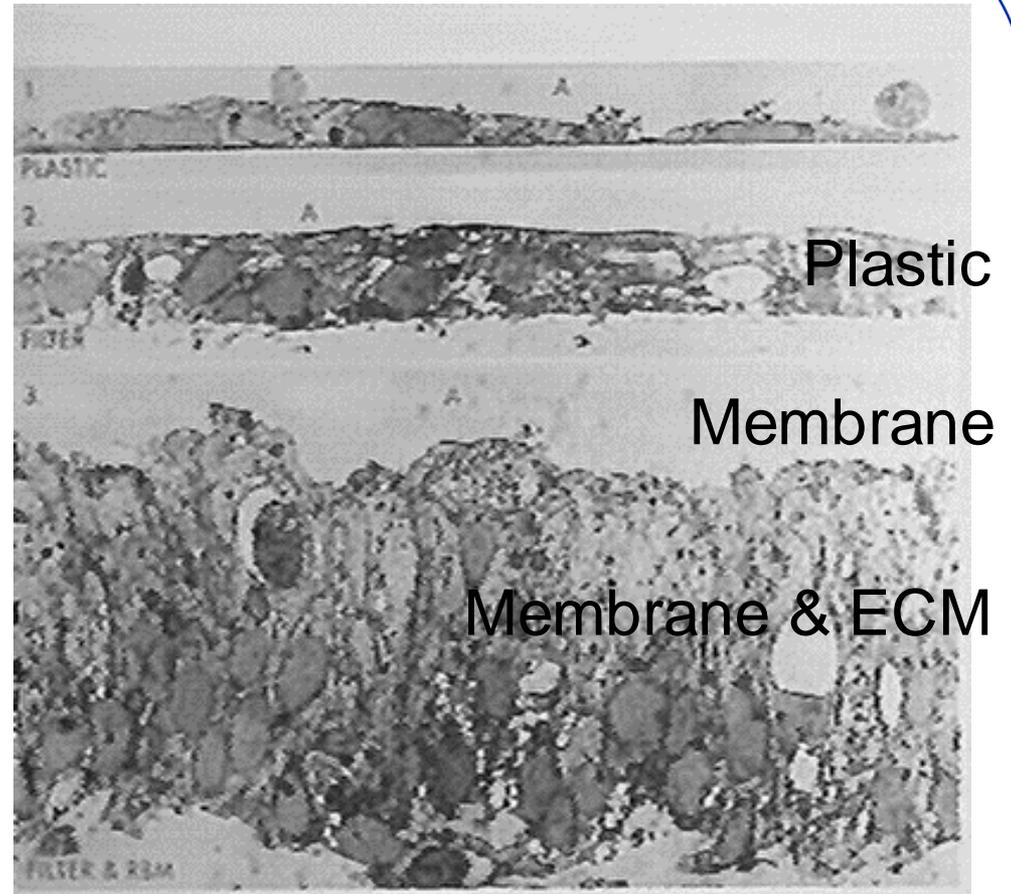


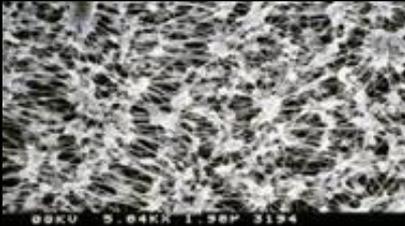
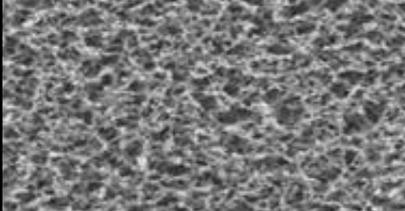
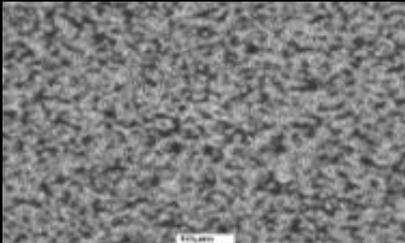
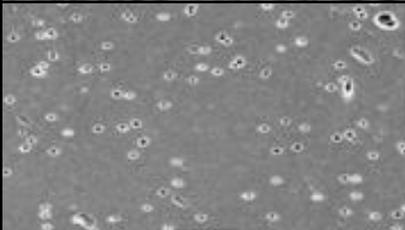
System
Components



Преимущества мембран

- улучшенная морфология
- лучше дифференциация
- больше внутриклеточных органелл
- выше плотность

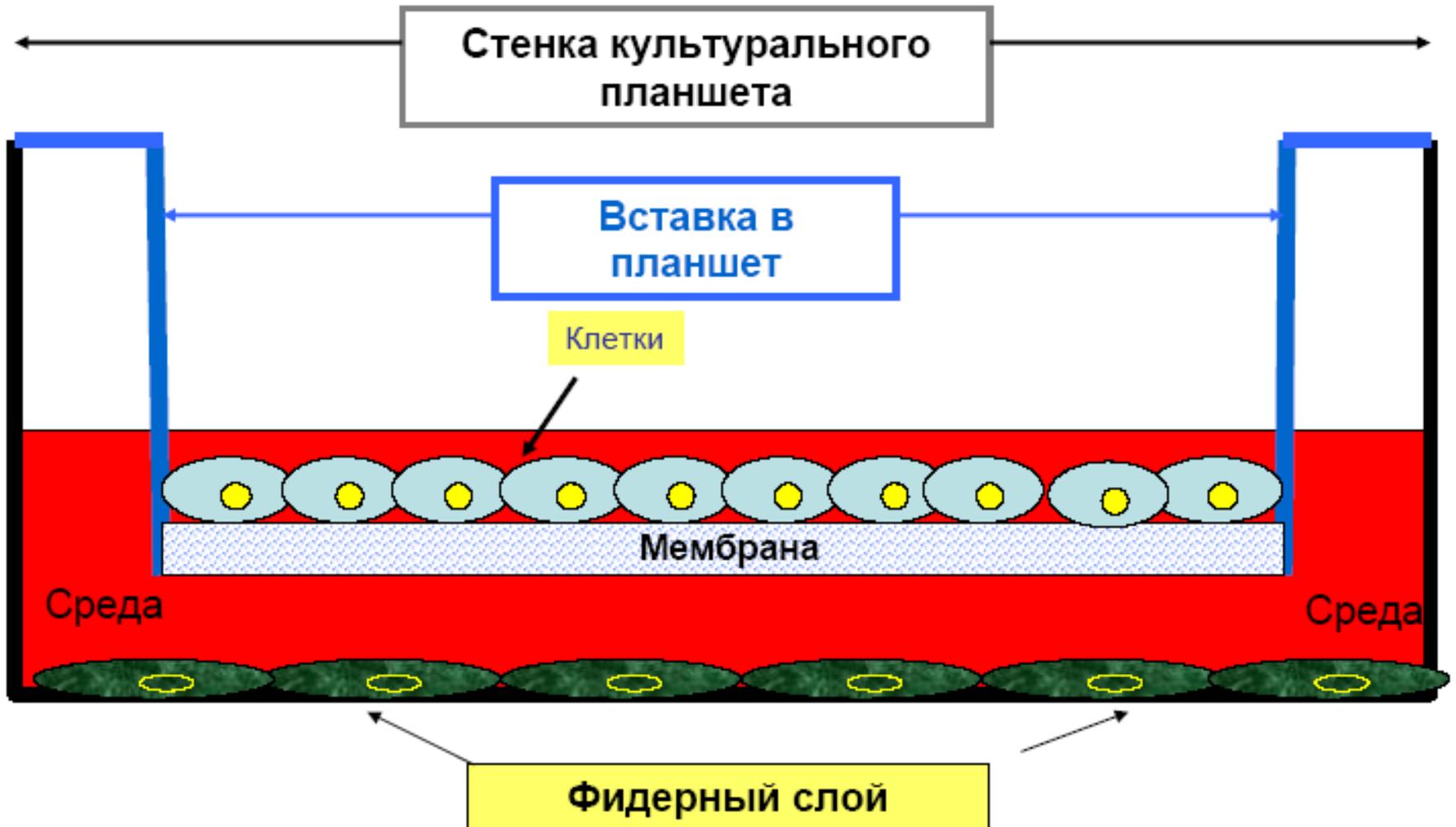


Материал	Мембрана	Прозрачность	Обработка тканевой культурой	Фотография	Толщина
Hydrophilic PTFE	Biopore™	Yes	No		50 μM
Mixed cellulose esters	MF-Millipore™	No	No		120 μM
Polycarbonate	Isopore™	No	Yes		10 μM
Polyethylene terephthalate	PET	1 μM only	Yes		10 μM

Рекомендации по выбору Millicell

Application	Standing Insert (pore size)	Hanging Insert (pore size)	24-Well Plate (pore size)	96-Well Plate (pore size)
Angiogenesis	PCF (3, 8)	PET (3, 5, 8)	PCF (3, 5, 8)	MultiScreen® MIC Plate (3, 5, 8)
Cell Proliferation	PCF (0.4)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Cell Surface Receptors	PCF (0.4) HA (0.45) CM (0.4)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Chemotaxis	PCF (3, 8)	PET (3, 5, 8)	PCF (3, 5, 8)	MultiScreen® MIC Plate (3, 5, 8)
Coculture	PCF (0.4) CM (1)	PET (0.4, 1)	PET (1) PCF (0.4)	PCF (0.4) PET (1)
Migration/Invasion	PCF (8,12)	PET (5, 8)	PCF (5, 8)	MultiScreen® MIC Plate (5, 8)
Epithelial Cell Growth	PCF (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Feeder Layers	PCF (0.4, 3, 8)	PET (all)	PCF (all) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Fluorescent Detection/ Immunohistochemistry	PCF (all) CM (0.4)	PET (all)	PCF (all) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
<i>In Vitro</i> Fertilization	CM (0.4)	PET (1)	PET (1)	PET (1)
<i>In Vitro</i> Toxicology	PCF (0.4) CM (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Microbial Attachment	PCF (0.4) CM (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Organotypic	Organotypic (0.4)			
Phase Contrast Microscopy	CM (0.4)	PET (1)	PET (1)	PET (1)
Polarized Protein Secretions	PCF (0.4) CM (1)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Polarized Uptake	PCF (0.4) CM (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Transport/Permeability	PCF (0.4)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
Tumor Cell Metastasis and Invasion	PCF (8,12)	PET (5, 8)	PCF (5, 8)	MultiScreen® MIC Plate (5, 8)

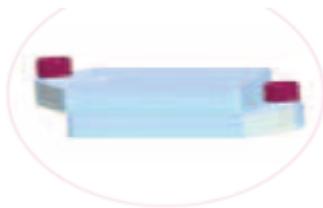
Ко-культивирование



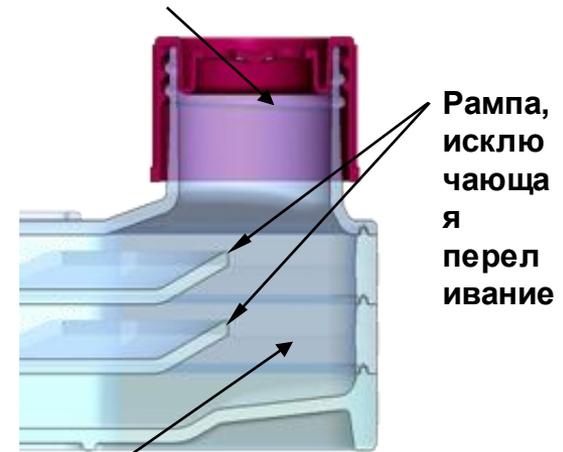
Улучшенная смачиваемость и прикрепление клеток за счет специальной плазменной обработки в вакууме

Универсальность использования

Большая площадь поверхности за счет многослойной структуры

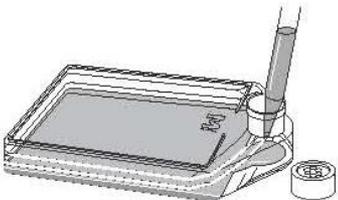


Простой доступ

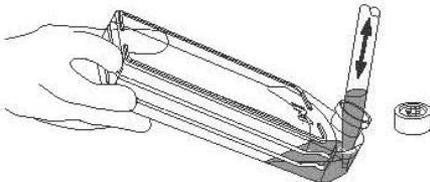


Рабочая зона

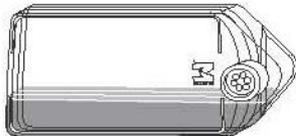
FILL



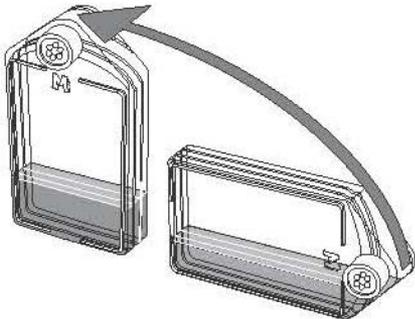
MIX



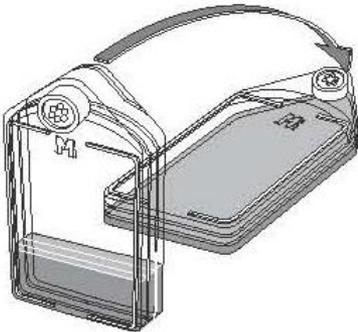
EQUILIBRATE



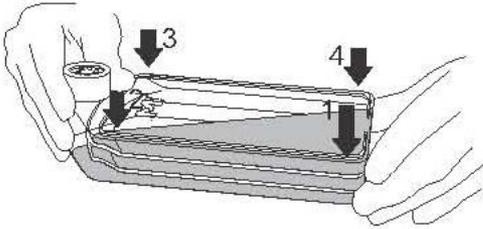
PARTITION



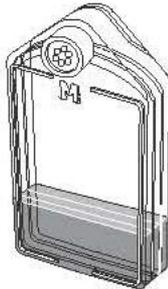
DISTRIBUTE



WETTING (OPTIONAL)



TRANSPORT



Millicell EZ SLIDE: одноразовый слайд, позволяющий вырастить, окрасить, рассмотреть клетки в микроскоп.

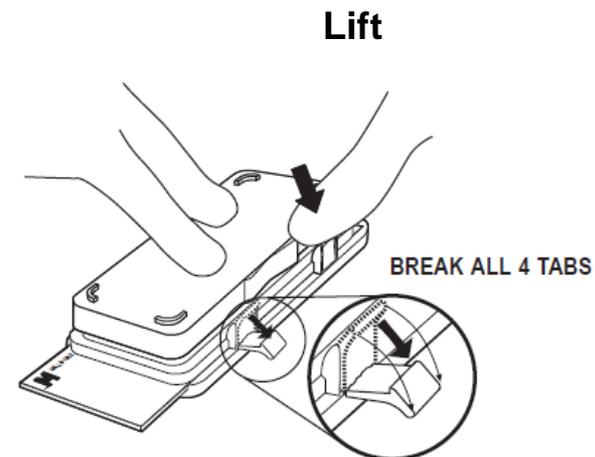
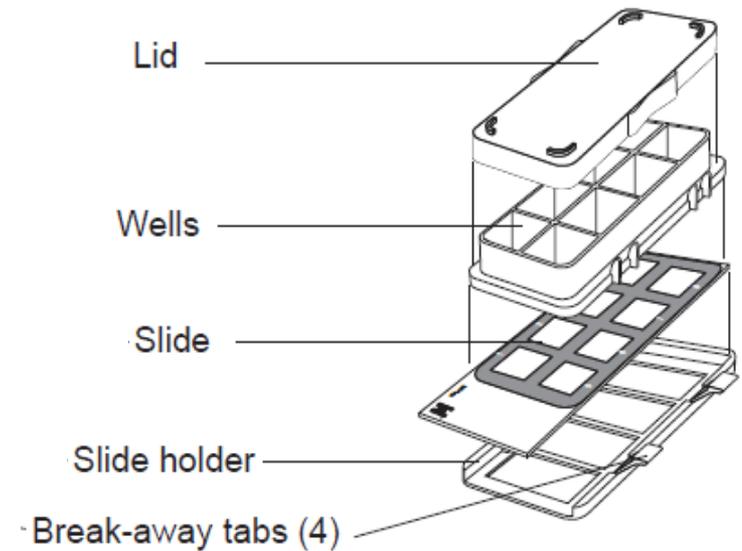
- Удобное культивирование на слайде
- Химически стойкие ячейки
- Ячейки удаляются после культивирования или окрашивания
- Слайд защищен от повреждений



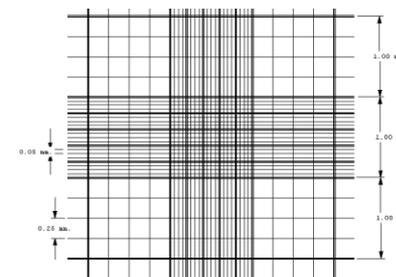
Как это работает

Протокол:

- Покрыть стекло ЕСМ*
- Поместить клетки в ячейки
- Вырастить
- Удалить среду
- Зафиксировать/окрасить
- Удалить ячейки
- Закрыть крышкой



Часто используемые инструменты при подсчете клеток



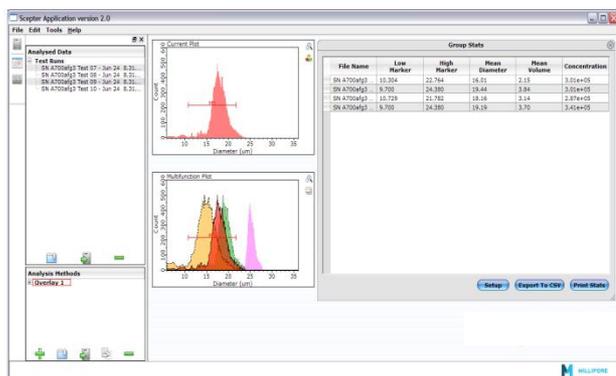
Камера Горяева



Автоматический счетчик клеток

Форма пипет-дозатора

- Компактный, легкий в использовании
- Эргономичный
- Инструкции на дисплее
- USB-порт для загрузки данных и зарядки
- Сохраняет 72 гистограммы



ПО Software Pro

- Мощная платформа анализа клеток
- Сравнение нескольких сетов образцов с использованием наложения гистограмм и многопараметрической таблицы
- Создание и сохранение методов гейтирования



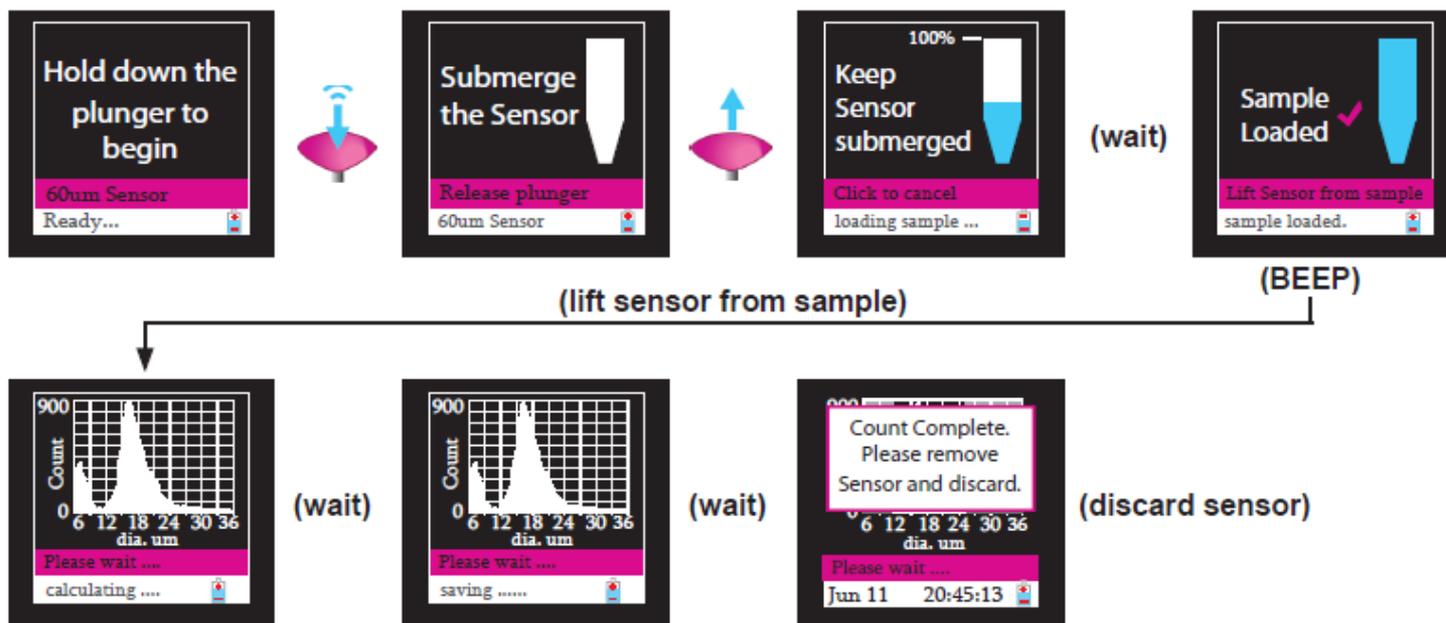
Интегрированный дисплей

- Данные о клеточной популяции в виде гистограмм
- Концентрация клеток
- Средний объем и размер клеток
- Возможно множественное гейтирование
- Дает информацию о функциональном состоянии клеточной популяции

Пластиковые сенсоры

- 2 типа сенсоров: 40 и 60 мкм
- Точно изготовленные электронные сенсорные зоны
- Определяет размер клетки с субмикронным разрешением
- Определяет размер клетки с субпиколитровым разрешением

Этапы подсчета клеток



Считает клетки менее чем за 30 секунд

Характеристики сенсоров

	40-мкм сенсор	60-мкм сенсор
Диапазон концентрации образца	50,000-1,500,000 частиц/мл	10,000-500,000 частиц/мл
Диаметр частиц (операционный диапазон*)	3-17 микрон	6-36 микрон
Средний диаметр клетки (рекомендуемый диапазон *)	4-13 микрон	8-25 микрон
Кат. №	50-pack: PHCC40050 500-pack: PHCC40500	50-pack: PHCC60050 500-pack: PHCC60500

*Сцептер будет считать любые частицы в пределах рабочего диапазона. Важно отметить, что клеточные популяции отображаются в виде нормального распределения и, следовательно, появляются в виде гистограммы с диапазоном +/- несколько микрон вокруг среднего размера клетки, этим объясняется наличие рекомендуемого диапазона

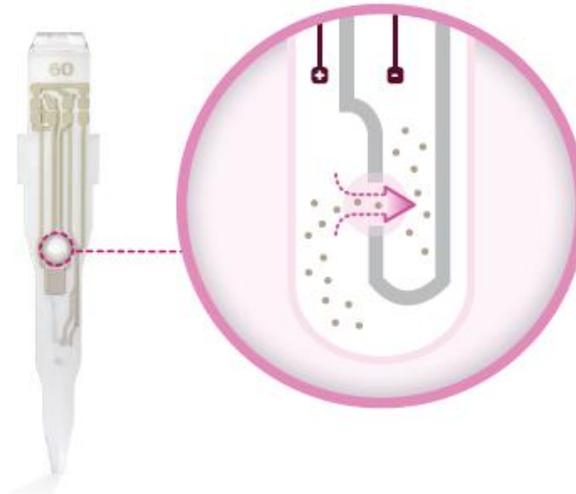
Выбор сенсора

	Измеряемый размер (µm)	40 µm	60 µm
NIH 3T3	15		■
454 beads			▨
Algae (various)	7-9	■	
CHO	14-17		■
Cos-7	15		■
Epithelia	14-15		■
HEK293	11-15		■
HeLa	12-14		■
HepG2	12		■
HT-29	11		■
HUH7-Hepatoma line			▨
B Cells	6-11	■	
Human ES Cells	9-12	■	
HUVEC	14-15		■
Jurkat	13		■
K562	22		■
Luminex beads	5-6	■	
MCF7	15-17		■
MDCK	13-15		▨

- Рекомендации основаны на размере
- Валидированы Merck Millipore
- Валидированы пользователями

	Измеряемый размер (µm)	40 µm	60 µm
Mouse Embryonic Stem Cell	5-13	■	■
Mesenchymal Stem Cell	15-16		■
PBMCs	7-12	■	
PC12	9-13		■
Primary Astrocytes	7	■	
Primary Neuronal Cell		■	
Rat Whole Blood	4.6	■	
Rat Dorsal Root Ganglion Cells	7	■	
Red Blood Cells	5-7	■	
Rat Neural Stem Cell	11-13		■
SF9	13		■
SH-SY5Y	12		■
Splenocytes	7-9	▨	
U266	12		■
U87-Human Glioblastoma cell line	12-14		▨
Yeast- <i>Pichia Pastoris</i>	5	■	
Yeast- <i>S.cerevisiae</i>	6	■	

Принцип Култера

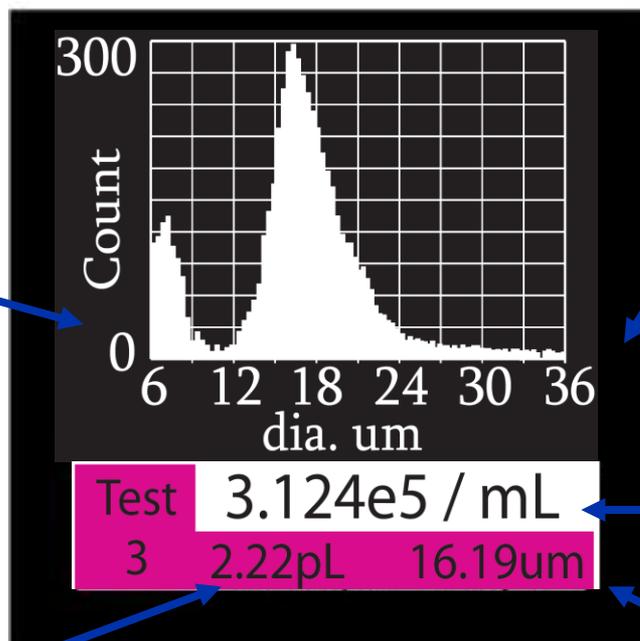


- Точные объемы образца поступают в сенсор Сцептера
- Как только клетки проходят через апертуру сенсора, сопротивление возрастает. Это увеличение сопротивления вызывает последующее увеличение напряжения.
- Изменения напряжения отражаются как пики каждой проходящей клетки.
- Пики одного и того же размера объединяются в гистограммы и считаются.
- Гистограмма предоставляет количественные данные о морфологии клеток, которые могут быть использованы для изучения функционального состояния культур клеток.

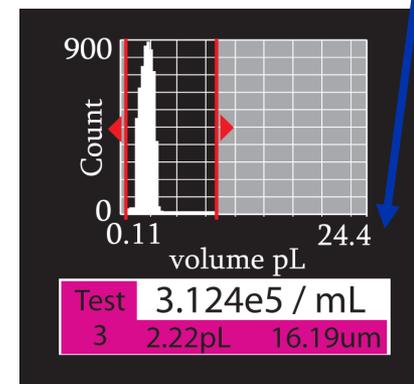
Гистограмма

Сцептер дает больше информации, чем просто подсчет

Ось X = диаметр или объем



Ось Y
= количество



Концентрация

Средний объем клетки

Средний диаметр клетки

Новый взгляд на клеточную культуру

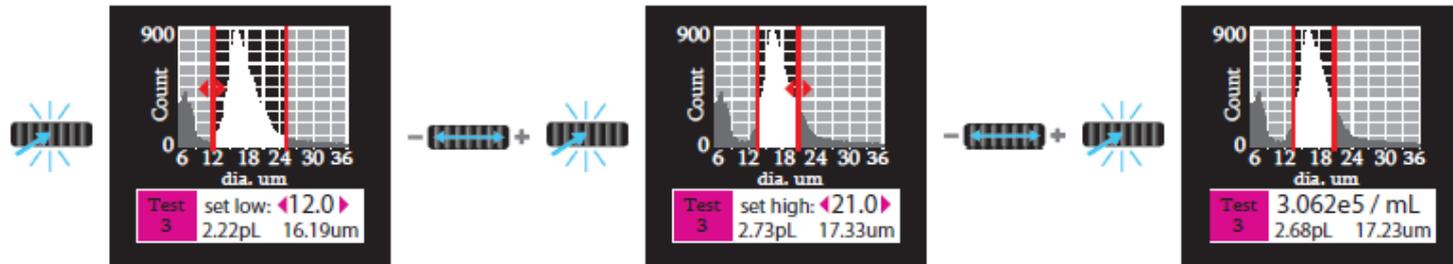
Передовая технология в сенсорах Сцептер



Компактный сенсорный электрод в прецизионно-формованном пробоотборном канале подобен компактному культеровскому счетчику, который был эталонным стандартом для клинического подсчета клеток в течение 50 лет.

- Быстрый
- Точный
- Аккуратный
- Не нужна очистка
- Отсутствие забивки
- Без суеты

Процесс гейтирования



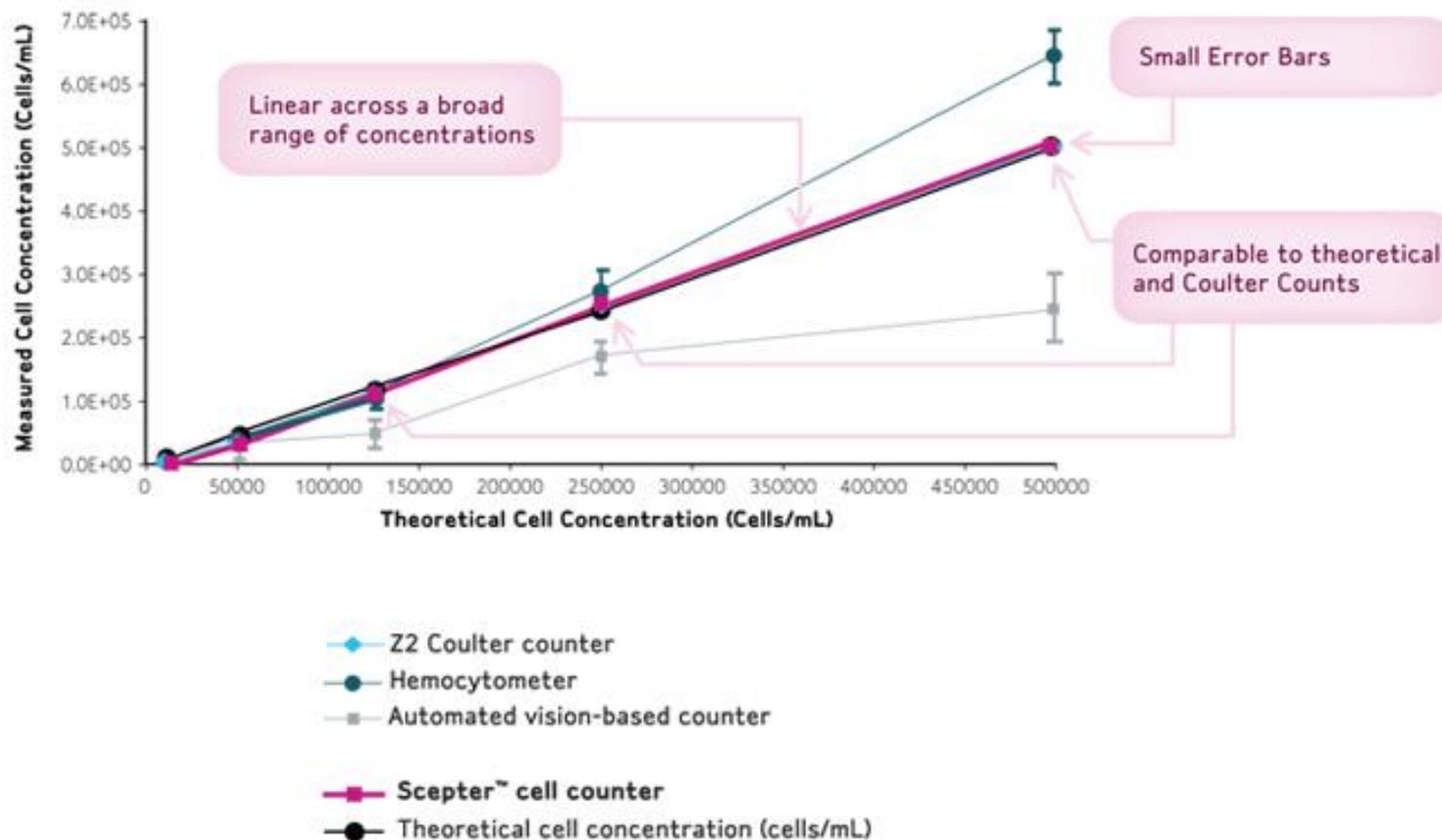
- Используйте ручное или автоматическое гейтирование для подсчета только тех клеток, в которых Вы заинтересованы
- Избавьтесь от нежелательных клеточных популяций

Почему Сцептер обеспечивает точность подсчета



	Что считает Сцептер?	Сравнение с другими системами
1. Сцептер считает больше клеток в образце, чем другие системы	Счетчик Сцептер считает каждую клетку в объеме 50 мкл, который он аспирирует. Гемоцитометры и <i>визуальные системы</i> используют 10 мкл, и даже меньшее количество	В 100,000 клеток/мл образца Число подсчитанных клеток: <i>Сцептер</i> = 5,000 клеток Гемоцитометр = 10 клеток/сетку <i>Vision-based systems</i> = 40 клеток
2. Сцептер лучше считает меньшие концентрации	Сцептер считает аккуратно каждую клетку при низких концентрациях	Визуальные системы требуют более высокой концентрации клеток для более аккуратного подсчета
3. Сцептер точно считает мелкие клетки	Сцептер использует измерение сопротивления и физического объема для точного подсчета мелких клеток	Визуальные системы выполняют очень плохой подсчет клеток с диаметром <6 мкм, поскольку невозможно отличить клетки от дебриса.

Сцептер превосходит другие счетчики

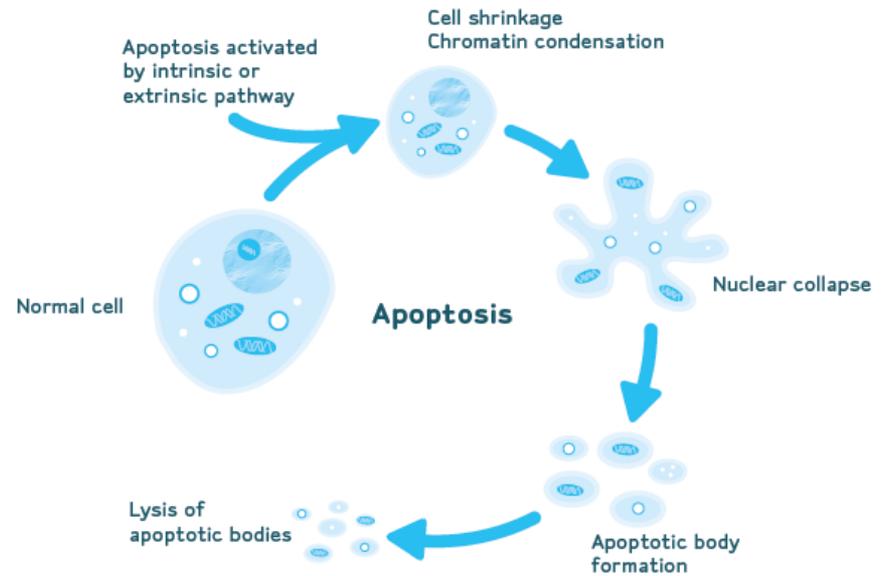
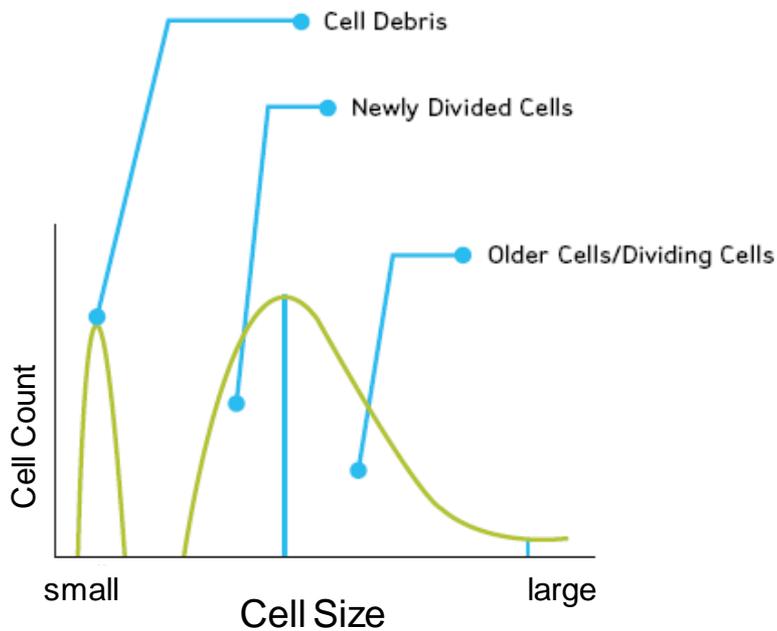


Данные показывают, что Сцептер представляет данные сопоставимой точности и линейности подсчета клеток с Z2 Coulter Counter™, без деформаций ручного подсчета клеток. Несколько типов клеток (показаны клетки Cos7) были посчитаны с использованием методов, показанных на рисунке. Подсчеты являются средними из 4 дубликатов, а ошибки представлены в виде стандартных отклонений.

Сцептер измеряет объем клеток

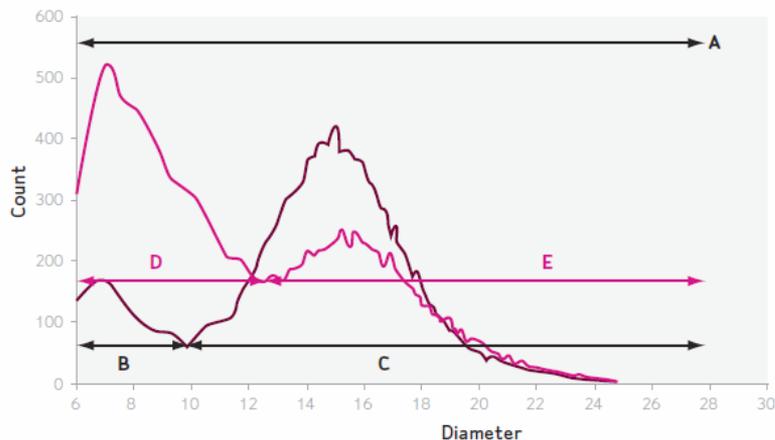
Измерение объема может служить индикатором функционального состояния клеток

Что измеряет Сцептер? **Объем.**
 Что изменяется при гибели клеток? **Объем.**



Оценка функционального состояния культуры

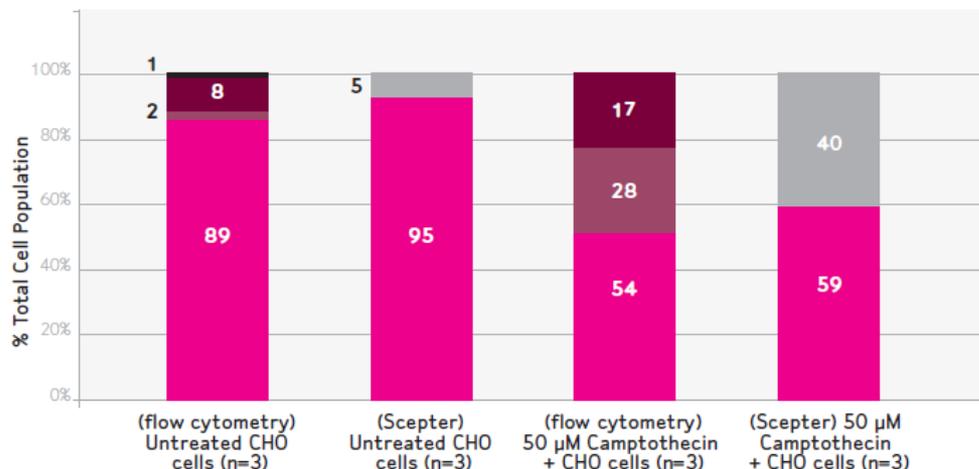
Оценка жизнеспособности проверена с помощью проточной цитометрии



- A:** 6 – 28.66 μm: total cell population
 - B:** 6 – 10.9 μm: debris & non-viable control 3T3
 - C:** 10.9 – 28.66 μm: viable control 3T3
 - D:** 6 – 12.51 μm: debris & non-viable induced 3T3
 - E:** 12.51 – 28.66 μm: viable induced 3T3
- = NIH 3T3 Cells: Untreated
 ■ = NIH 3T3 Cells: 50 μM Camptothecin

- Слева: Апоптоз приводит к изменению в размерах, которые могут быть измерены Сцептером
- Коричневая линия = 95% жизнеспособных клеток
- Розовая линия = 68% жизнеспособных клеток

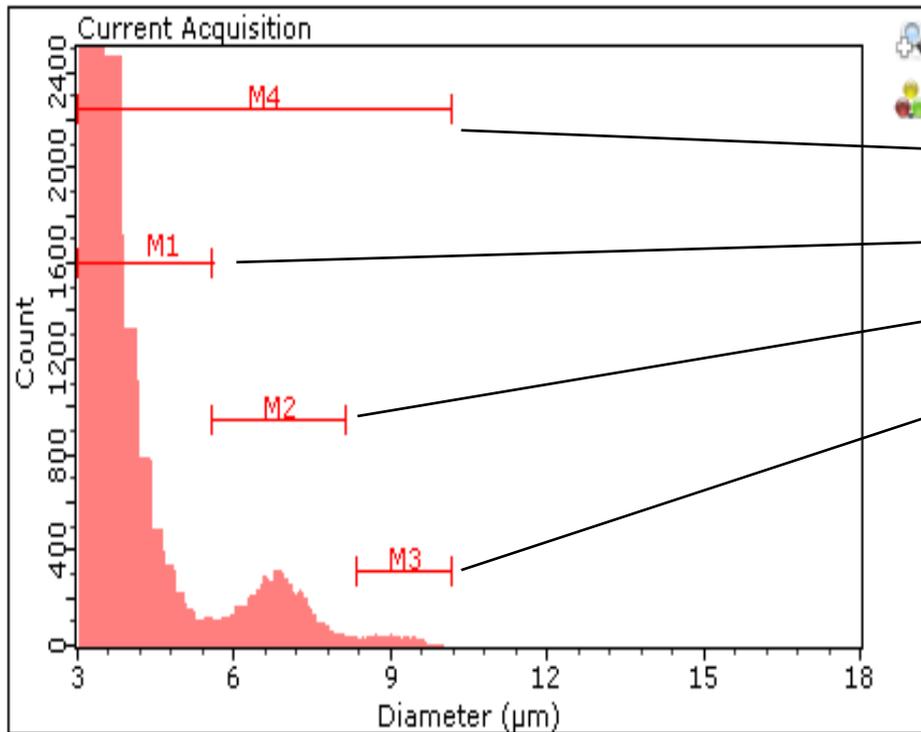
- Справа: данные Сцептера согласуются с данными проточной цитометрии при оценке жизнеспособных и нежизнеспособных клеток. Клетки NIH 3T3 и CHO были проанализированы методом проточной цитометрии с меткой клеток фикоэритрином (PE), конъюгированных с аннексином V



■ = Viable Cells ■ = Early Apoptosis ■ = Late Apoptosis ■ = Total non-viable and Debris ■ = Debris

Подсчет мононуклеарных клеток периферической крови (МПК) и гейтирование субпопуляций

Гейтирование популяций



M4 = Общее число клеток

M1 = Эритроциты

M2 = Лимфоциты

M3 = Моноциты и нейтрофилы

Заключение: что такое Scepter?

Scepter

это

НЕДОРОГОЙ
экспресс-диагностический
прибор

Обеспечивающий быстрый (<20 sec), и
наглядный анализ распределения
клеточной популяции по размеру клеток

Для

клеточных биологов
работающих с клеточными
культурами

Нуждающихся в БЫСТРОЙ оценке
физиологического состояния
клеточных культур



Выбор системы

 BEST!!

	Scepter™	Muse™	easyCyte™
Эксперименты	1-15	1-25	25- >100
Размер клеток			
Подсчет			
Жизнеспособность			
Необходимость в индикаторах апоптоза			
Несколько флуоресцентных параметров			
Нестандартные задачи			

Спасибо за внимание!