

ДИА•М
современная лаборатория

www.dia-m.ru
заказ on-line

RWD

RWD Life Science Co., Ltd

Автоматический счетчик клеток C100

Руководство по эксплуатации В

000 «Диаэм»

Москва
ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

С.-Петербург
+7 (812) 372-6040
spb@dia-m.ru

Новосибирск
+7(383) 328-0048
nsk@dia-m.ru

Воронеж
+7 (473) 232-4412
vrn@dia-m.ru

Йошкар-Ола
+7 (927) 880-3676
nba@dia-m.ru

Красноярск
+7(923) 303-0152
krsk@dia-m.ru

Казань
+7(843) 210-2080
kazan@dia-m.ru

Ростов-на-Дону
+7 (863) 303-5500
rnd@dia-m.ru

Екатеринбург
+7 (912) 658-7606
ekb@dia-m.ru

Кемерово
+7 (923) 158-6753
kemerovo@dia-m.ru

Армения
+7 (094) 01-0173
armenia@dia-m.ru



© 2020 Shenzhen RWD Life Science Co., Ltd, Все права сохранены.

Права на интеллектуальную собственность

Права интеллектуальной собственности на это изделие и руководство по его эксплуатации принадлежат компании RWD Life Science Co., Ltd (далее RWD), включая, без ограничений, патент, товарные знаки, авторское право и др.

RWD оставляет за собой право на окончательную интерпретацию этого руководства по эксплуатации.

RWD имеет право на использование этой инструкции в качестве конфиденциальной информации. Лица и/или организации не должны раскрывать информацию, содержащуюся в этой инструкции, полностью или частично, без письменного разрешения RWD. Также другие лица или организации не должны получать информацию из этой инструкции, полностью или частично, любыми средствами.

Лица и/или организации не должны публиковать, изменять, воспроизводить, издавать, сдавать в аренду, адаптировать и переводить ее на другие языки без письменного разрешения RWD.



является зарегистрированным товарным знаком или товарным знаком RWD, эти товарные знаки и связанный защитный знак являются неосязаемой собственностью RWD. Товарные знаки или знаки, не принадлежащие RWD, в этом руководстве используются только в редакторских целях без других целей, права принадлежат соответствующим владельцам.

Заявление

RWD оставляет за собой право на изменение содержания этого руководства без уведомления.

RWD сохраняет за собой право на изменение технологии без предварительного уведомления.

RWD сохраняет за собой право на изменение технических требований без предварительного уведомления.

RWD не может гарантировать (помимо прочего) подразумеваемую рыночную ценность и пригодность для конкретной цели.

RWD несет ответственность за безопасность, надежность и рабочие характеристики только при следующих условиях:

Сборка, расширение, регулировка, улучшения и ремонт производятся только уполномоченным персоналом RWD;

Электрическое оборудование соответствует национальным стандартам; инструмент эксплуатируется в соответствии с руководством по эксплуатации.

RWD не несет ответственности за безопасность, надежность или рабочее состояние изделия при следующих условиях: самостоятельная разборка, расширение или удаление компонентов; ремонт или модификация, выполненная лицами, не уполномоченными RWD; несоответствие руководству по эксплуатации.

Содержание

Руководство по эксплуатации В.....	1
Права на интеллектуальную собственность	2
Заявление.....	2
1-Введение	4
1.1 Обзор.....	4
1.2 Безопасность	4
1.3 Подробное описание	4
1.4 Свойства изделия.....	5
1.5 Требования к внешним условиям	5
1.6 Рабочие параметры изделия	5
1.7 Профили пользовательских настроек.....	6
1.8 Список продукции.....	6
2-Важные сведения и безопасность	7
2.1 Символы безопасности	7
2.2. Меры предосторожности	7
3-Конструкция изделия.....	10
4-Подготовка.....	11
4.1 Запуск	11
4.2 Настройка профилей	11
4.3 Загрузка профилей.....	16
4.4 Подготовка образцов.....	16
4.5 Методы окрашивания.....	17
4.6 Внесение образцов в счетный слайд.....	18
5- Подсчет клеток и оценка жизнеспособности.....	19
5.1 Исследования в светлом поле.....	19
5.2 Анализ флуоресценции	23
5.3 Сохранение результатов	25
5.4 Предыдущие подсчеты.....	26
5.5 Настройки системы	26
6-Обслуживание	29
6.1 Ежегодный осмотр	29
6.2 Очистка.....	29
7-Устранение неисправностей	30

1-Введение

1.1 Обзор

Спасибо за выбор автоматического счетчика клеток C100 производства RWD Life Science Co., Ltd (далее RWD)!

Для более эффективного использования этого изделия внимательно прочтите прилагающиеся инструкции перед началом установки и эксплуатации.

RWD Life Science Co., Ltd. стремится к улучшению работы изделия и качества обслуживания.

RWD оставляет за собой право на изменение содержания этого руководства без предварительного уведомления.

Если вам нужна новейшая информация об изделии, позвоните нам или посетите сайт (<http://www.rwdstco.com/>). Если вы обнаружите несоответствие между инструментом и руководством во время эксплуатации нашего изделия, или если у вас есть вопросы или предложения, свяжитесь с нами.

Это руководство по эксплуатации относится к следующим автоматическим счетчикам клеток производства RWD:

- Автоматический счетчик клеток — C100

1.2 Безопасность

Во избежание ущерба для здоровья оператора и повреждений системы прочтите главу 2 "Безопасность системы".

Если у вас есть вопросы или предложения по поводу безопасности, обратитесь в нашу компанию за послепродажным обслуживанием.



К эксплуатации и обслуживанию инструмента допускаются только обученные специалисты!

1.3 Подробное описание

Для работы с культурами клеток необходимо четкое понимание их процессов жизнедеятельности, умение отличать живые клетки от мертвых и проводить точный подсчет этих клеток, определять концентрацию клеток, подсчитывать выживаемость и скорость роста. Для клеток, экспрессирующих флуоресцентные белки или меченных флуоресцентными красителями, используются флуоресцентные методики обнаружения и подсчета. Например, подсчет клеток, экспрессирующих GFP, после успешной трансфекции.

Автоматический счетчик клеток с помощью камеры собирает и анализирует изображения клеток для оценки концентрации клеток в образце. После окрашивания трипановым синим можно выявить соотношение живых и мертвых клеток, а после установки флуоресцентного модуля провести флуоресцентный анализ.

Диаэм - официальный дилер продукции **RWD** в России;
тел.: (495) 745-0508, info@dia-m.ru, www.dia-m.ru

Счетчик клеток C100 подходит для подсчета клеток и дальнейшего флуоресцентного анализа, оценки жизнеспособности стволовых клеток, первичных клеток и других различных клеточных линий, экономя время и повышая точность подсчета по сравнению с традиционными ручными методами.

1.4 Свойства изделия

- Легкая и компактная конструкция и простой в применении пользовательский интерфейс
- Точные результаты подсчета клеток и оценки жизнеспособности доступны в течение 15 секунд.
- Пороговые значения для клеточного анализа можно настраивать.
- Применяются одноразовые счетные слайды, исключая этап очистки и предотвращения перекрестной контаминации образцов.
- Каждый счетный слайд состоит из 2 отдельных камер. Таким образом, один слайд можно использовать для 2 различных образцов или двух повторов одного образца с целью перепроверки результатов.
- Данные подсчета клеток можно сохранить и экспортировать.

1.5 Требования к внешним условиям

Рабочую среду инструмента подготавливают в соответствии с условиями, перечисленными ниже, чтобы гарантировать работоспособность и безопасность лазерной системы визуализации.

	Описание
Рабочая среда	Температура: 10~40°C
	Влажность: 10%~75% (без конденсации)
	Высота над уровнем моря: <2000 м
Условия хранения	Температура: -20~60°C
	Влажность: 10~93% (без конденсации)
	Высота над уровнем моря: <2000 м
Источник питания	1) Используйте входящий в комплект сетевой адаптер переменного тока RWD Входное напряжение: 90 ~264 В, 50/60 Гц, 2 А Выходное напряжение: 24 В пост. тока; выходная частота: 1,5 А 2) Колебания напряжения и частоты не должны превышать 5% от рабочего напряжения.

1.6 Рабочие параметры изделия

Рабочие параметры	Подробное описание
Диапазон размеров клеток	Рекомендуемый 7~60 мкм, допустимый 4~60 мкм
Диапазон округлости клеток	1~100 (мин./макс. размер)
Диапазон концентраций клеток	$10^4 \sim 10^7$ кл./мл
Время автоматической обработки в стандартном режиме	≤ 10 с
Время обработки в быстром режиме	≤ 13 с

Диаэм - официальный дилер продукции **RWD** в России;
 тел.: (495) 745-0508, info@dia-m.ru, www.dia-m.ru

Точность повторных измерений	KB<5%
Объем сохраненных данных	1000 записей
Разрешение сенсорного экрана	1024*600
Время отклика	100 мс
Коэффициент увеличения	Оптическое увеличение 2,5x
Разрешение изображения CMOS	5 мегапикселей
Цифровое увеличение	Увеличение 4x
Флуоресцентные световые кубы (дополнительно)	DAPI (375/28Ex 460/50Em) AO/GFP (480/30Ex 535/40Em) PI (540/25Ex 620/60Em)

1.7 Профили пользовательских настроек

Рабочие параметры	Подробное описание
Интенсивность флуоресценции	0~255
Размер клеток	4~60 мкм
Округлость клеток	1~100
Яркость клеток	1~255
Яркость светлого поля	0~100
Яркость флуоресцентной колонки	0~100
Увеличение (%)	100~800
Фокус	0~2 400
Количество профилей	До 18 профилей

1.8 Список продукции

Конфигурация	Компонент	Количество	Описание
Стандартная	Автоматический счетчик клеток	1	Счетчик клеток
Стандартная	Адаптер для работы от сети переменного тока	1	Питание
Стандартная	Счетный слайд для клеток	1	50 шт. в коробке
Дополнительная	Флуоресцентный световой куб	1	3 варианта флуоресцентных кубов с источником света возбуждения разной длины волны
Дополнительная	Калибровочные шарики для проверки работоспособности прибора	1	Калибровка прибора

2-Важные сведения и безопасность

2.1 Символы безопасности



Опасность легковоспламеняющейся атмосферы

Эксплуатация инструмента в среде с легковоспламеняющимися газами не допускается.



Опасность электромагнитных помех

Убедитесь, что инструмент эксплуатируется в среде с контролируемыми электромагнитными помехами во избежание сбоев. Никогда не используйте передатчики, такие как мобильные телефоны, вблизи инструмента. Если инструмент сломался или требует технического обслуживания, выключите его и обратитесь в отдел сервисного обслуживания RWD.



Радиационная опасность

При работе с радиоактивными образцами всегда соблюдайте все применимые правила радиационной защиты. При утилизации радиоактивных загрязнителей обязательно проведите соответствующую дезинфекцию и примите меры безопасности. В соответствии с применимыми правилами и требованиями к утилизации радиоактивных веществ, операторы должны всегда работать в защитной одежде (например, защитной маске, перчатках, бахилах). Радиоактивные загрязняющие вещества необходимо утилизировать в соответствии с применимыми требованиями.



Опасность инфекции

Образцы, используемые с этим инструментом, могут быть инфекционными. По этой причине рекомендуется соблюдать общие лабораторные правила контроля инфекций. Информацию об обеззараживающих веществах, их применении, разведении и эффективном использовании см. в Руководстве по биологической безопасности в лабораториях, выпущенном ВОЗ в 1984 г. При работе с инфекционными образцами всегда выполняйте все применимые правила радиационной защиты. При утилизации инфекционных веществ обязательно проведите соответствующую дезинфекцию и примите меры безопасности. В соответствии с применимыми правилами контроля инфекций в лабораториях операторы должны всегда работать в защитной одежде (например, защитной маске, перчатках, бахилах). Инфекционные вещества необходимо утилизировать в соответствии с применимыми требованиями.



Утилизация отходов

Все остатки, отходы, инфекционные и радиоактивные загрязнители, образовавшиеся во время работы, необходимо утилизировать в соответствии с применимыми лабораторными нормативами. Дезинфектанты, чистящие растворы и секционные отходы необходимо утилизировать в соответствии с требованиями к утилизации особых отходов. Реактивы необходимо утилизировать как описано в паспорте безопасности производителя (ПБ).

2.2. Меры предосторожности

2.2.1 Общие требования безопасности

- a) Выполняйте все инструкции, указанные во всех предупреждениях в руководстве и на этикетках инструмента. К работе с инструментом допускаются только обученные

специалисты. Работа с инструментом разрешается только в рамках его назначения и только с компонентами и принадлежностями, подходящими для инструмента. Производитель не несет ответственности за любые повреждения инструмента, вызванные неправильной эксплуатацией, в том числе ущерб для третьих лиц.

- b) Пользователь может обслуживать инструмент самостоятельно, но только в степени, рекомендованной в этом руководстве. Чтобы гарантировать безопасность эксплуатации и правильную работу, необходимо регулярное техническое обслуживание, рекомендованное производителем. Операции по обслуживанию, не указанные в этом руководстве, должен выполнять обученный и квалифицированный технический персонал или инженеры. Любые изменения инструмента без разрешения производителя могут привести к нарушению его работы.

2.2.2 Химическая безопасность

Для безопасного использования электрических устройств, поставляемых вместе с инструментом, необходимо соблюдать следующие правила:

- a) Перед подключением инструмента к сети убедитесь в соответствии рабочего напряжения всех компонентов. Необходимо использовать источник питания, совместимый с инструментом. Параметры источника питания см. на паспортной табличке инструмента.
- b) Для подключения инструмента и периферического оборудования используйте розетку с заземляющим контактом и убедитесь в надлежащем заземлении. Убедитесь, что периферическое оборудование подключено к розеткам с защитной жилой заземления и что жилы заземления не заблокированы. Отсутствие предохранителя или жилы заземления может привести к риску поражения электрическим током.
- c) Убедитесь, что провод питания чистый.
- d) При обнаружении потенциально небезопасной работы выключите питание и немедленно выдерните вилку из розетки.
- e) При попадании любой жидкости на электрические цепи инструмента немедленно отключите питание и выдерните вилку из розетки, а затем быстро вытрите влажные части инструмента досуха.
- f) Следите, чтобы стол во время работы оставался сухим.
- g) Тип предохранителя (номинальное напряжение, номинальный ток и модель) должен соответствовать требованиям производителя. Не используйте не подлежащие обслуживанию или использованные предохранители и избегайте короткого замыкания предохранителя.
- h) Инструмент должен быть заземлен во избежание поражения электрическим током.

Если при работе с инструментом образуются потенциально опасные отходы, необходимо:

- a) определить природу отходов (путем анализа при необходимости) в соответствии с конкретной методикой, реактивами и субстратами, используемыми в лаборатории.
- b) Принять меры по охране здоровья и безопасности всего персонала лаборатории.
- c) Всегда хранить, перевозить и утилизировать отходы инструмента в соответствии с местными требованиями.

2.2.3 Безопасность химических отходов

ВНИМАНИЕ! Вредные отходы. При работе руководствуйтесь паспортом безопасности и применимыми местными требованиями к обращению с отходами и их утилизации.

Чтобы свести к минимуму риск, связанный с химическими отходами, необходимо:

- a) Прочтите и поймите паспорт безопасности, предоставленные производителями химикатов, находящихся в контейнере для отходов, перед хранением, манипуляциями или утилизацией химических отходов.
- b) Иметь основной и дополнительный контейнеры для хранения отходов. (Основной контейнер используется для хранения образующихся отходов, а дополнительный — для хранения отходов, разлившихся или вытекших из основного контейнера). Оба контейнера должны быть совместимыми с химическими свойствами отходов и соответствовать местным требованиям к хранению отходов.
- c) Свести к минимуму контакт с химикатами. При работе с химикатами всегда используйте подходящие средства защиты (защитные очки, перчатки или защитную одежду). Подробные руководства по безопасности см. в паспорте безопасности.
- d) Сведите к минимуму риск вдыхания химикатов. Не оставляйте контейнеры с химикатами открытыми. Работайте с химикатами только в условиях хорошей вентиляции (например, в вытяжном шкафу). Подробные руководства по безопасности см. в паспорте безопасности.
- e) Работайте с химическими отходами только в помещении с хорошей вентиляцией.
- f) После опорожнения контейнеров для отходов плотно закройте их прилагающейся крышкой.
- g) Отходы в поддонах и бутылках следует утилизировать в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики и местными требованиями охраны здоровья и окружающей среды.

2.2.4 Безопасность электрооборудования

- a) Во избежание поражения электрическим током не разбирайте инструмент.
- b) Для замены используйте предохранители подходящего типа и номинала, как указано.
- c) Непрерывность цепи заземления имеет решающее значение для безопасной эксплуатации инструмента. Не эксплуатируйте инструмент при отсоединенной жиле заземления.
- d) Подключайте инструмент к заземленной розетке, рассчитанной на соответствующий ток.

2.2.5 Биологическая безопасность

Биологические образцы (такие как ткани людей и животных, биологические жидкости и кровь) несут потенциальный риск передачи инфекционных заболеваний. Всегда выполняйте все применимые местные требования. Надевайте подходящие защитные очки, одежду и перчатки.

2.2.6 Электромагнитная совместимость

В этом разделе представлена следующая информация: европейские стандарты безопасности и ЭМС



Знак CE показывает, что изделие соответствует всем применимым требованиям Европейского Сообщества, для которых необходима эта маркировка. При эксплуатации инструмента пользователи должны выполнять условия, описанные в этом руководстве.

3-Конструкция изделия

Автоматический счетчик клеток C100 состоит из основного корпуса и счетного слайда для клеток.

- **Автоматический счетчик клеток**



Рис. 3-1

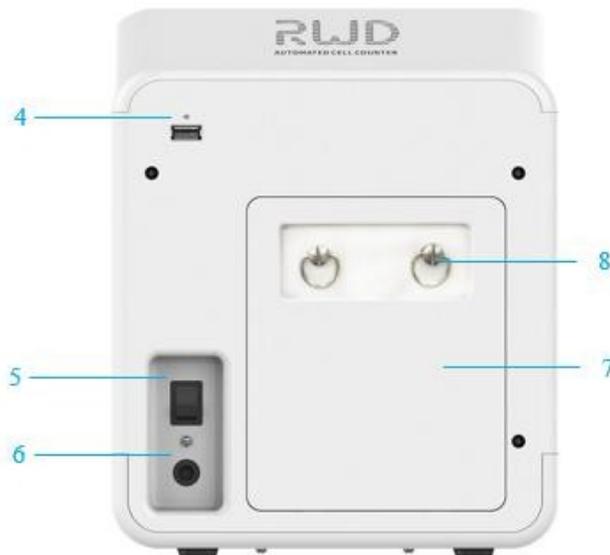


Рис. 3-2

- ① Сенсорный экран: емкостный дисплей 7 дюймов для управления.
- ② USB-порт 1: результаты подсчета и изображения можно загружать на внешний носитель, подключенный к USB-порту. Формат USB-носителя: FAT32.
- ③ Порт счетного слайда: для вставки слайда с образцом
- ④ USB-порт 2: функции такие же, как у USB-порта 1.

Примечание: два USB-порта для передачи данных расположены с передней и задней сторон инструмента. Чтение информации через оба USB-порта одновременно невозможно.

- ⑤ Кнопка включения питания: выключатель питания
- ⑥ Гнездо провода питания: служит для подключения инструмента к розетке сети питания при помощи входящего в комплект провода питания и соответствующей вилки в зависимости от конфигурации розеток в вашей стране.
- ⑦ Задняя панель: используется для хранения **флуоресцентных кубов (дополнительных)**, чтобы брать их для работы. Задняя панель закреплена на инструменте неразъемным крепежом ¼.
- ⑧ Стопорный винт: стопорный винт на задней панели, который можно ослабить вращением против часовой стрелки.

- **Счетный слайд для клеток**

Пластиковый одноразовый закрытый счетный слайд состоит из двух отдельных камер для образцов, которые также можно использовать для двух повторов одного образца для перепроверки результатов. Клетки подсчитываются в центре каждой камеры. Общий объем для подсчета клеток составляет 20 мкл, что эквивалентно двум малым квадратам в стандартной камере Горяева для подсчета клеток крови.

Примечание: чтобы добиться лучших результатов со счетчиком, не касайтесь его оптических поверхностей и всегда надевайте перчатки при работе с образцами.

4-Подготовка

4.1 Запуск

После правильного подключения инструмента к сети можно его включить. Нажмите кнопку включения питания для запуска инструмента и перехода к главному меню, показанному на рисунке ниже.

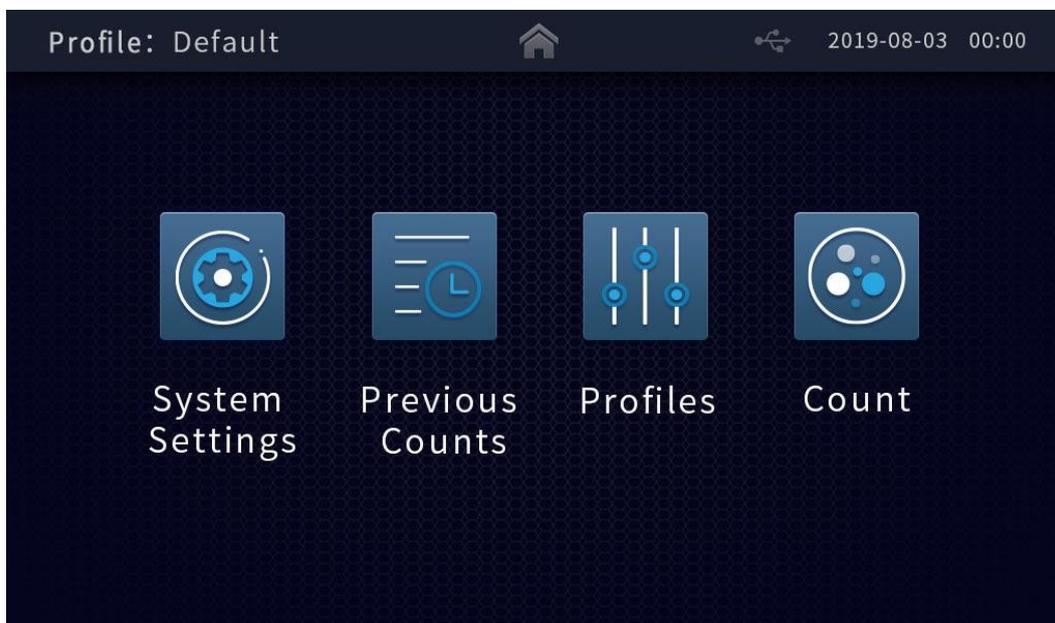


Рис. 4-1

Главное меню состоит из четырех частей: «Системные настройки», «Предыдущие результаты подсчета», «Профили» и «Подсчет».

Примечание: если пользователь вставит счетный слайд, когда на экране отображается главное меню, то система автоматически перейдет на страницу подсчета, на которой можно сразу произвести подсчет клеток в соответствии с настройками по умолчанию и получить результат. Пользователь по необходимости для фильтрации результатов подсчета также может установить размер клеток, яркость и округлость в меню «Профили».

4.2 Настройка профилей

При анализе в светлом поле пользователь может установить пороговые значения результатов подсчета на основании размера, яркости и округлости с помощью ползунка меню «Профили» на основании ОЕФ (RFU, ОЕФ, относительная единица флуоресценции) канала. Меню «Профили» позволяет регулировать пороговые значения, переименовывать и сохранять их, для следующего подсчета клеток.

Режим светлого поля (СП)

Перейдите в меню «Профиль» из главного меню, нажав [Profiles]. По умолчанию включен режим без красителя Трипановый синий. В этом режиме для просмотра доступны общая концентрация клеток, гистограмма распределения клеток по размеру и средний размер.

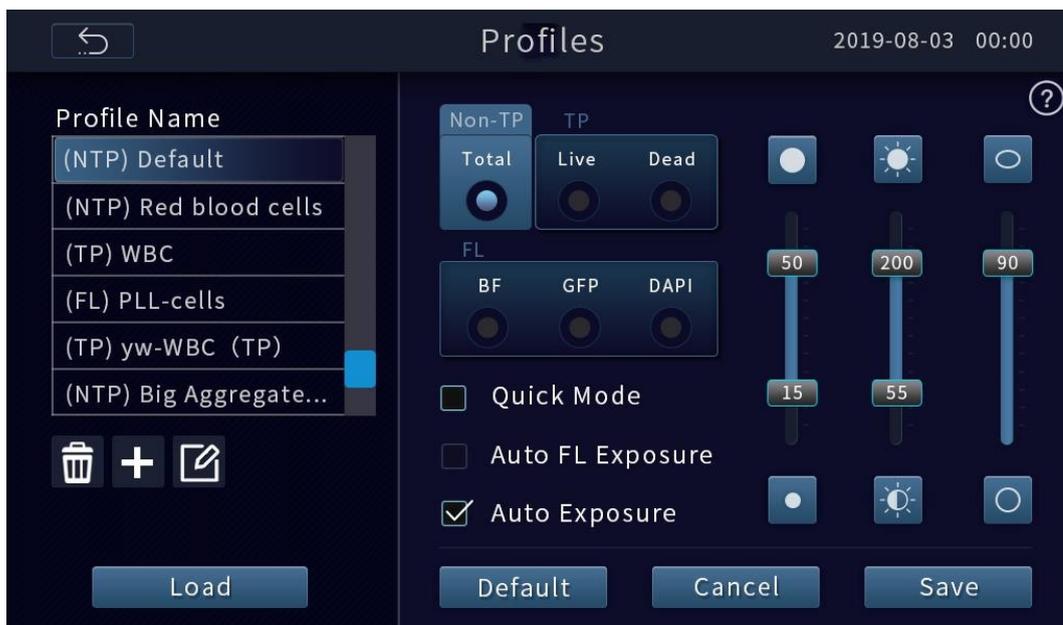


Рис. 4-2

Нажмите [Trypan Blue] для перехода в режим с использованием красителя Трипановый синий. В этом режиме для просмотра доступны общая концентрация клеток и соотношение концентраций мертвых/живых клеток, гистограммы распределения размеров мертвых/живых клеток и средний размер.



Рис. 4-3

Режим Флуоресценции (ФЛ)

На следующем рисунке показано, как отрегулировать пороговые значения [DAPI FL]. Результаты подсчета в этом режиме включают общий график распознавания клеток, общую концентрацию клеток, концентрацию клеток АО/GFP, DAPI, PI, общую гистограмму распределения клеток по размеру/ количеству, гистограммы интенсивности флуоресценции/ гистограмму распределения клеток по количеству и др.

Примечание: если пользователь выберет только канал светлого поля в режиме флуоресценции, будет возможно вычисление только общего количества клеток без

дифференциации клеток по интенсивности флуоресценции.

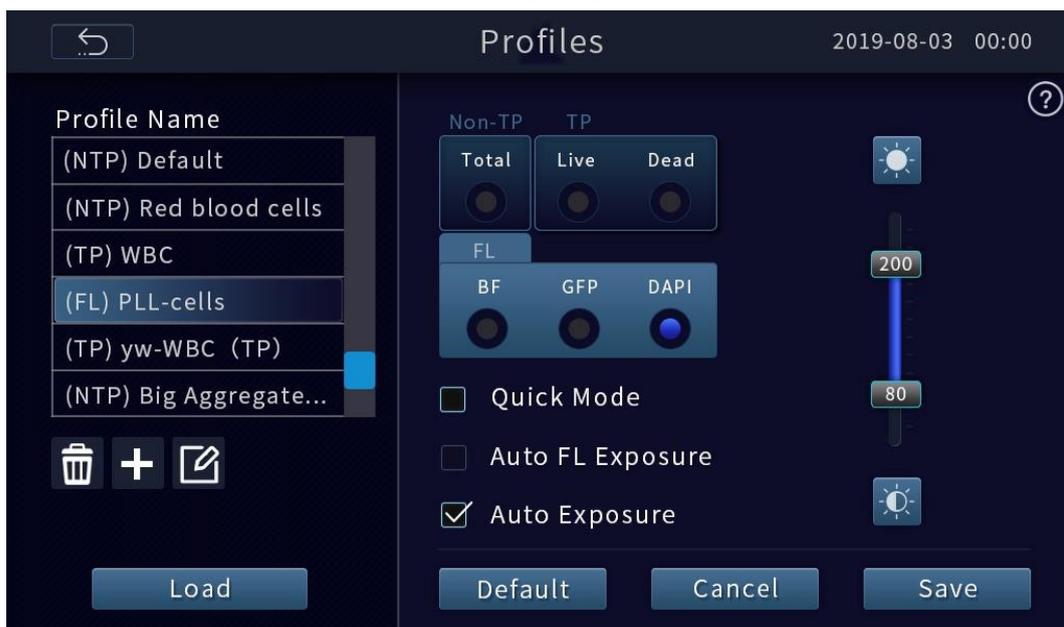


Рис. 4-4

4.2.1 Регулировка параметров



Ползунки для регулировки размера, яркости и округлости

Размер: переместите ползунок, чтобы система при подсчете отбирала клетки соответствующего размера.

= более крупная мишень = более мелкая мишень

Отсев по размеру: диапазон по умолчанию 7-60 мкм, нижний предел идентификации может быть до 4 мкм.

Если в образце много мусора, например, в виде фрагментов от разрушенного клеточного материала, мешающих подсчету, то рекомендуется установить пороговое значение по минимальному размеру анализируемых клеток.

Яркость: переместите ползунок, чтобы система отсеивала клетки по яркости при подсчете.



= мишень более высокой яркости



= мишень более низкой яркости

Округлость: переместите ползунок, чтобы система отсеивала клетки по округлости при подсчете.



= мишень меньшей округлости



= мишень большей округлости

Ползунок установки округлости устанавливает только одно пороговое значение; подсчитываются клетки в установленном диапазоне, а клетки за его пределами исключаются. Для регулировки порога округлости переместите ползунок к цели.

Относительная единица флуоресценции: переместите ползунок, чтобы система отсеивала клетки по значению ОЕФ при подсчете.



Ползунок регулировки ОЕФ



= мишень с большим значением ОЕФ



= мишень с меньшим значением ОЕФ

Диапазон ОЕФ от 0 до 255, и регулировка в профилях обычно не требуется. После получения изображения устройство автоматически вычисляет значение ОЕФ фона и устанавливает нижний предел ОЕФ выше фона, чтобы отфильтровать фоновый сигнал. Автоматически вычисленный фон обычно позволяет дифференцировать фон от флуоресцентных клеток, однако если фоновая флуоресценция слишком высока или флуоресценция клеток слишком низкая, автоматически вычисленный порог оказывается неподходящим, что приводит к отфильтровыванию флуоресцирующих клеток или сохранению остаточной фоновой флуоресценции. На этом этапе пользователь должен самостоятельно отрегулировать порог ОЕФ.

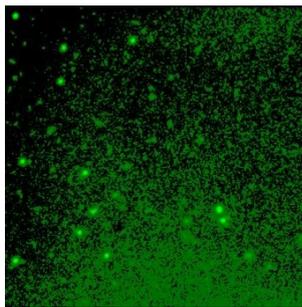


Рис. 4-5 Чрезмерная флуоресценция фона приводит к остаточному фону
Каждое пороговое значение параметра можно отрегулировать коротким или длинным нажатием показанной выше пиктограммы.

Чтобы получить справку о концепциях, размере, яркости, округлости, ОЕФ и др., нажмите на значок  в верхнем правом углу меню. Как показано на рис. 4-6.

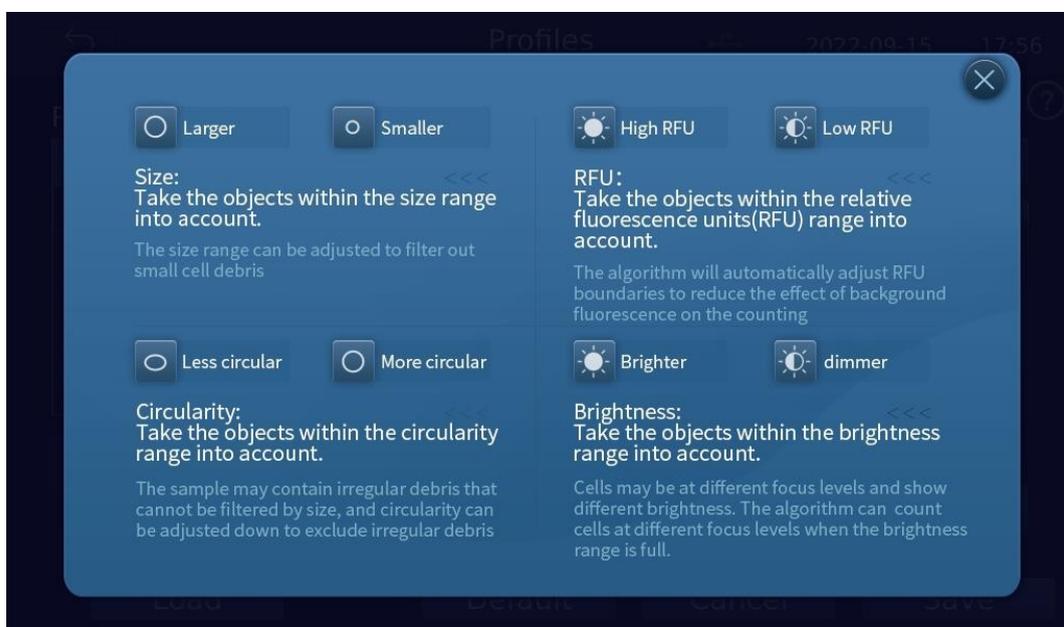


Рис. 4-6

Быстрый режим

Нажав [Quick Mode], можно выполнить подсчет в быстром режиме; в ином случае подсчет будет производиться в стандартном режиме. После выбора профиля подсчета в быстром режиме и после распознавания счетного слайда алгоритм будет непосредственно подсчитывать клетки и выводить результаты; в стандартном режиме сначала появятся результаты фокусировки, а затем, после нажатия пользователем кнопки [Count], результаты подсчета.

Быстрый режим подходит для образцов клеток без мусора и с умеренной концентрацией. В этом режиме фокусировка и подсчет проводится в автоматическом режиме после распознавания слайда, сокращая время анализа. Даже если результаты визуализации при подсчете не идеальны, вы можете нажать кнопку возврата и снова перейти к главному меню для более тонкой ручной настройки.

Примечание: быстрый режим не рекомендуется для подсчета флуоресцентных клеток.

Автоматическая экспозиция и автоматическая ФЛ экспозиция

Пользователь может выбрать, активировать ли параметры [Auto Exposure] и [Auto FL Exposure]. Автоматическая экспозиция позволяет регулировать яркость в режиме светлого поля/флуоресценции в зависимости от характеристик клеток и затем выбирать, возвращать ли систему к настройкам яркости по умолчанию после подсчета.

Возврат к значениям по умолчанию

Нажмите [Default] для восстановления начальных настроек, включая автоматическую экспозицию во режиме ФЛ, автоматическую экспозицию, быстрый режим, стандартный режим, пороговое значение для каждого профиля и др.

4.3 Загрузка профилей

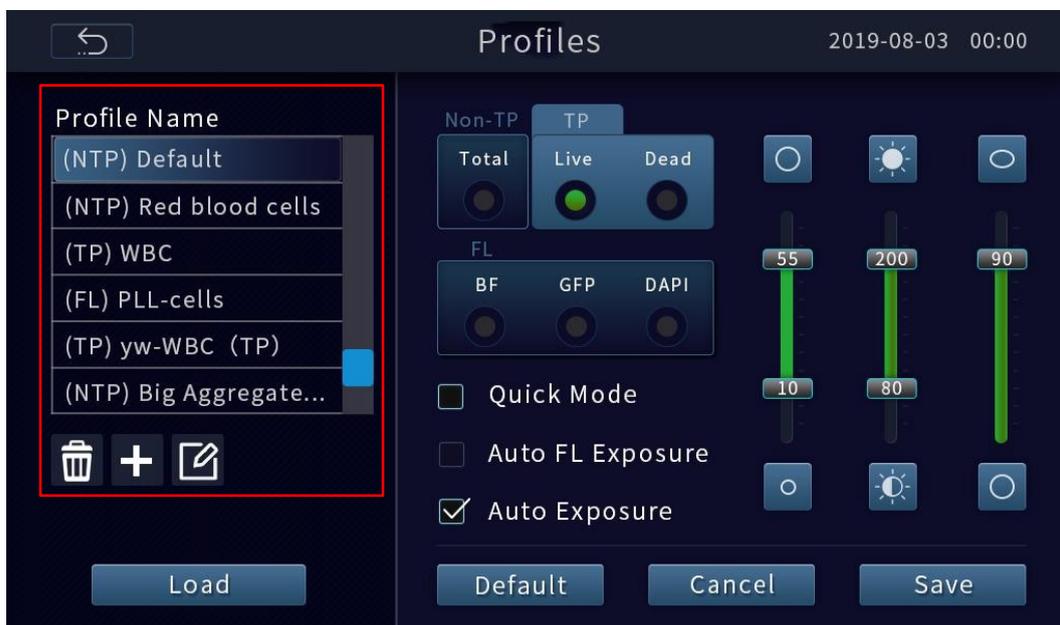


Рис. 4-7

В левом столбце на странице профилей вы можете удалять, добавлять и переименовывать профили протоколов в соответствии с пиктограммами   . Здесь вы можете создать до 18 пользовательских протоколов, которые можно запустить непосредственно до и во время подсчета. Каждый протокол определяет параметры подсчета (размер, яркость, округлость и интенсивность флуоресценции) для упрощения рабочего процесса. После выбора протокола нажмите [Apply] (применить), и выбранные профили будут применяться ко всем новым подсчетам клеток. Если вы уже завершили подсчет, используя конкретный профиль, то полученные данные можно пересчитать, используя новый профиль (общее число клеток, выживаемость и др.).

4.4 Подготовка образцов

Для получения лучших результатов необходимо следовать описанным ниже инструкциям:

1) Перед отбором образца убедитесь, что клеточная суспензия гомогенна и хорошо суспендирована. Чем дольше стоит клеточный образец, тем больше он нуждается в осторожном встряхивании для суспендирования клеток. Рекомендуется отбирать материал из середины пробирки, а не со дна.

- 2) Диапазон концентраций клеток: $1 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ клеток/мл, оптимально $1 \times 10^5 - 4 \times 10^6$ клеток/мл.
- 3) Для точной оценки жизнеспособности клеток убедитесь, что область подсчета полностью покрыта клеточной суспензией, а окрашивание проводите точно по методике анализа.
- 4) Не давите на оптическую поверхность счетного слайда. Держите слайд за края.
- 5) Следите, чтобы в образце не появлялись пузыри.
- 6) Старайтесь максимально снизить количество мусорного материала в клеточном образце. В образцах с большим количеством мусора сложно подсчитать и оценить жизнеспособность клеток независимо от метода окрашивания. Мусор может появиться от трипанового синего или распада клеток. Возможные меры для устранения мусора в образцах:
 - ♦ центрифугирование красителя трипанового синего для получения надосадочной жидкости;
 - ♦ центрифугирование клеток и затем повторное суспендирование.

4.5 Методы окрашивания

4.5.1 Окрашивание AO/PI

Рекомендуемый способ окрашивания:

Окрашивание в соответствии с рекомендованным способом и рекомендованной концентрацией в ПРИОБРЕТЕННОМ наборе для AO/PI.

В большинстве случаев, при конечной концентрации красящего раствора 2–20 г/мл, клеточные образцы инкубируют в течение 5–30 минут для получения яркой флуоресценции ядер. Однако для определенных клеточных линий, условий и методик требуется оптимизация процесса окрашивания. На этом этапе только увеличение или снижение концентрации красящего раствора позволяет получить наилучшую степень окрашивания.

Метод быстрого окрашивания:

- ♦ Смесь для окрашивания 100 г/мл PI, 40 г/мл АО готовят заранее.
- ♦ Образцы, по 20 мкл клеток, вносят в пробирки типа Эппендорф и добавляют предварительно приготовленную смесь красителей АО/PI того же объема. Смесь мягко и осторожно пипетируют с помощью дозатора, и инкубируют 3–5 минут.
- ♦ Затем образцы еще раз мягко пипетируют. 10 мкл вносят в счетный слайд для анализа.

4.5.2 Окрашивание DAPI

Окрашивание в соответствии с рекомендованным способом и концентрацией в ПРИОБРЕТЕННОМ наборе DAPI.

В большинстве случаев окончательная концентрация раствора красителя DAPI составляет 0,1–1 мкг/мл, клеточные образцы инкубируют 3–10 минут для получения яркой флуоресценции ядер. Однако для определенных клеточных линий, условий и методик требуется оптимизация. На этом этапе только увеличение или снижение концентрации красящего раствора позволяет получить наилучшую степень окрашивания.

Примечание: красящий раствор DAPI полупроницаемый. Хотя он позволяет окрашивать как живые, так и фиксированные клетки, время окрашивания живых клеток должно быть

больше, в противном случае пропорция окрашенных клеток будет ниже. Если вы не хотите долго ждать и вам не нужно анализировать жизнеспособность клеток, то можно добавить 75% спирт, при этом происходит убивка клеток, время окрашивания снижается.

4.6 Внесение образцов в счетный слайд

- 1) Для подготовки образцов смешайте 10 мкл клеточной суспензии с 10 мкл 0,4% трипанового синего. Перемешайте образец мягким пипетированием.
- 2) Осторожно наберите 10 мкл образца и внесите в верхнюю полулунную камеру. Образец проникнет в счетный слайд по внутренней капиллярной системе.
- 3) Подождите 30 секунд и вставьте счетный слайд с образцом в соответствующий порт. При вставке до упора может быть слышен мягкий щелчок.
- 4) Чтобы извлечь счетный слайд, просто слегка нажмите на него, вдавив в порт, и он выйдет наружу со щелчком за счет действия пружины. Извлекая слайд, держите его за края.

Примечание: не используйте повторно одноразовый счетный слайд, так как это может повлиять на результаты.

5-Подсчет клеток и оценка жизнеспособности

Если система распознает вставку счетного слайда, открывается страница подсчета для просмотра клеток. Эта страница позволяет выполнять такие действия, как увеличение, тонкая настройка фокуса и регулировка яркости источника света, для оптимизации получаемого изображения, для точного определения концентрации и подсчета живых/мертвых клеток.

5.1 Исследования в светлом поле

Страница подсчета в режиме трипанового синего/ без трипанового синего



Рис. 5-1



на рис. выше показывает название активного профиля протокола. Щелкните по этой пиктограмме для перехода на страницу профилей.

 позволяет отрегулировать яркость источника света. Если отметить [Auto Exposure] (автоматическая экспозиция), будут автоматически установлены значения по умолчанию. Вы можете вручную отрегулировать яркость источника света, нажав  и . Диапазон регулировки: 0–100.

Слишком высокая или слишком низкая яркость влияет на качество изображения. При автоматической экспозиции прибор оптимизирует яркость для получения более качественного изображения. Последствия чрезмерной, умеренной и недостаточной экспозиции в светлом поле показаны на рис. 5-2 ниже.

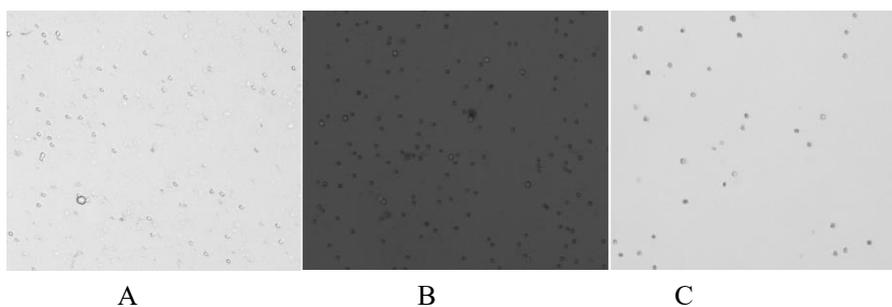


Рис. 5-2

- А. Чрезмерная экспозиция: источник света слишком яркий и фон белый, свет мешает рассмотреть детали клеток, ухудшая их распознавание.
- В. Недостаточная экспозиция: источник света слишком тусклый и фон слишком темный, клетки тоже слишком темные, что мешает дифференциации живых и мертвых клеток.
- С. Нормальная экспозиция: умеренная яркость источника света, четкие контуры клеток, живые и мертвые клетки значительно различаются по пропусканию.

5.1.1 Фокусировка

Пиктограмма  в нижнем левом углу предназначена для фокусировки. Щелкните по пиктограмме для автоматической фокусировки или щелкните по ней, чтобы открыть ползунок регулировки , и затем нажмите  или  для настройки резкости. Диапазон регулировки: 0–2400.

Значение пиктограммы : индивидуальная настройка пользователя для установки резкости. При следующем использовании инструмента система по умолчанию настраивает фокусировку на основании последних пользовательских установок, для получения картинки наилучшего качества, которую можно использовать для точного подсчета клеток.

Примечание: установленное значение будет влиять на автофокус.

Примечание: правильная настройка резкости — ключ к правильной идентификации клеток и дифференциации живых и мертвых клеток. Изображения клеток с правильной и неправильной фокусировкой показаны на рис. 5-3.

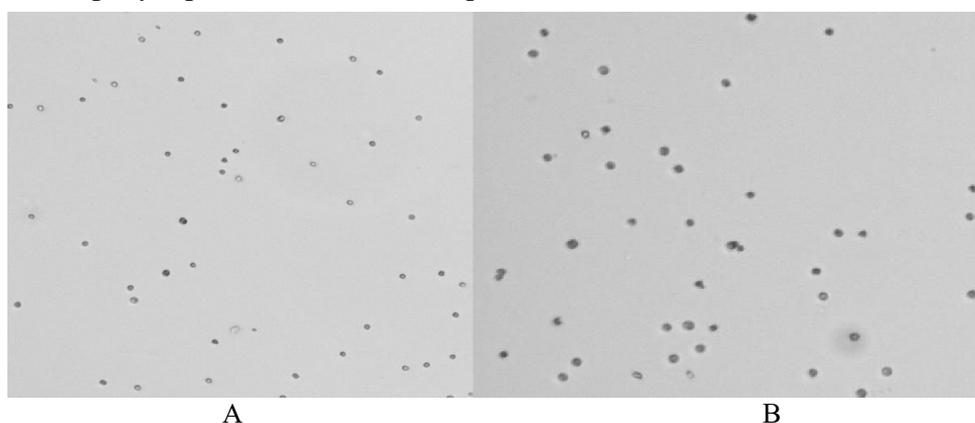


Рис. 5-3

А. Нормальный фокус: клетки четко очерчены, с прозрачным просветлением в центре живых клеток, а мертвые клетки непрозрачные из-за окрашивания трипановым синим.

В. Неправильная фокусировка: контуры клеток размыты. Живые клетки, как и мертвые клетки, выглядят одинаково непрозрачными.

Неправильная фокусировка может привести к следующему:

- Из-за сферической формы клеток при отклонении фокусной длины устройства центр клеток выглядит непрозрачным после окрашивания трипановым синим, поэтому устройство ошибочно интерпретирует клетки как мертвые.
- При отклонении фокусной длины устройства клетки имеют расплывчатые ореолы, поэтому устройство ошибочно классифицирует мертвые клетки как живые.

Как установить, правильность настройки фокуса:

- После завершения автоматической фокусировки посмотрите на визуализацию клеток в поле зрения. Если вы видите, что некоторые клетки имеют четкие очертания и прозрачны в середине, а некоторые клетки четкие в целом, однако середина непрозрачная, фокус установлен правильно.
- При отсутствии очевидных характеристик, описанных выше, увеличьте изображение и выберите область с наибольшим количеством клеток, а затем тонко настройте фокусную длину сверху вниз, чтобы изменения в изображении клеток были четко видны, и выберите состояние, при котором края клеток максимально четкие.

Если нажать , появится ползунок  для регулировки масштаба активной области просмотра изображения.

По завершении операций на странице подсчета [Count] откроется страница результатов [Result], где можно увеличивать масштаб, помечать клетки или просматривать гистограммы, редактировать профили и подсчитывать клетки на полученных изображениях. Страница результатов в режиме окрашивания трипановым синим выглядит как показано ниже.



Рис. 5-4

Нажмите  для просмотра гистограммы, как показано на рис. ниже, и нажмите повторно для возврата.



Рис. 5-5

Нажмите , чтобы пометить клетки, как показано на рис. ниже.



Рис. 5-6

Нажмите,  чтобы перейти к странице повторной настройки профиля.

Нажмите  для перехода на страницу калькулятора разведения, как показано на рис. ниже, где можно вычислить объем имеющейся маточной клеточной суспензии и объем буферного раствора для разведения до желаемого объема и концентрации.

Коэффициент разведения образца:

концентрация клеток, определенная счетчиком клеток, представляет собой фактическую концентрацию клеток в текущем слайде, полученную путем разведения исходного раствора. Таким образом, пользователю необходимо пересчитать текущую концентрацию в концентрацию исходной суспензии, чтобы вычислить объем исходной суспензии, потребовавшийся для разведения до целевой концентрации.

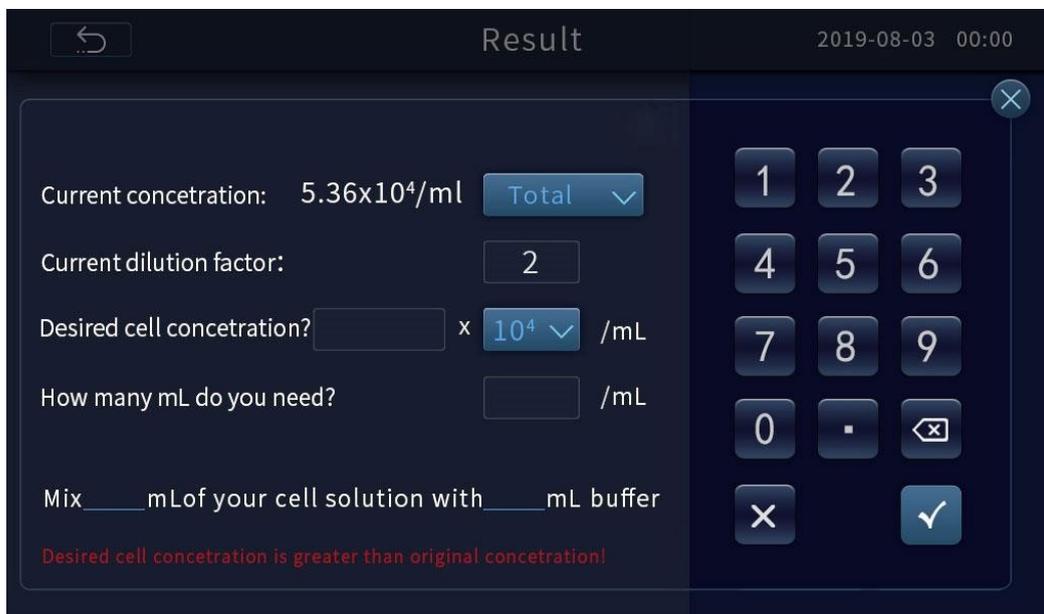


Рис. 5-7

5.2 Анализ флуоресценции

На следующем рисунке показана страница получения данных при анализе флуоресценции. Это меню позволяет выполнять такие действия, как увеличение, тонкая фокусировка и регулировка яркости источника света, для получения оптимального изображения.

Примечание: пиктограммы и их значения для флуоресцентного анализа см в разд. 5.1. в соответствующих разделах.

Страница получения данных флуоресцентных методов

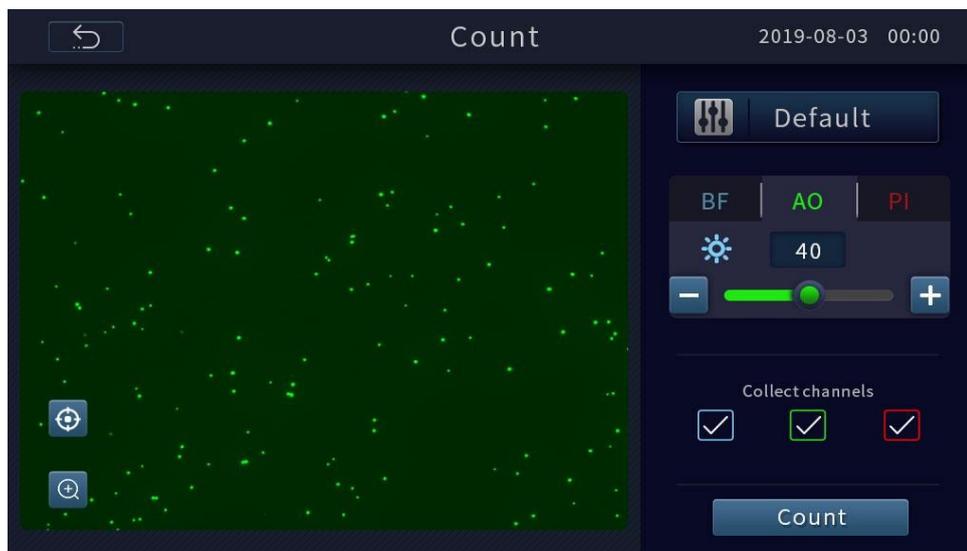


Рис. 5

Пиктограмма предназначена для регулировки яркости. Если отметить пункт [Auto FL exposure], будет автоматически установлено значение по умолчанию, либо можно отрегулировать яркость вручную кнопками и .

Диапазон регулировки: 0–100.

Флуоресценция – довольно сложный и не постоянный процесс. Количество флуоресцирующих клеток и значение ОЕФ влияет на результат установки автоматической экспозиции. Возможный результат чрезмерной, умеренной и недостаточной экспозиции показан на рис. 5-9.

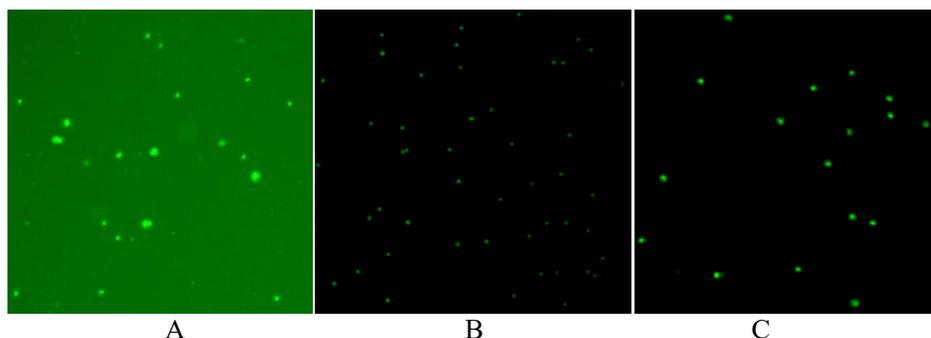


Рис. 5-9

А. Чрезмерная экспозиция при флуоресценции: флуоресцентный источник света слишком яркий и очень сильна фоновая флуоресценция, что мешает распознаванию и наблюдению клеток.

В. Недостаточная экспозиция при флуоресценции: яркость флуоресцентного источника света слишком низкая, общая флуоресценция клеток слабая, клетки темные, и некоторые клетки с более светлым окрашиванием не были учтены.

С. Умеренная экспозиция при флуоресценции: умеренная яркость флуоресцентного источника света, без очевидного фона, однородная яркость флуоресценции клеток, клетки четко видимы.

Страница результатов



Рис. 5-10

Нажмите для входа в меню канала. Нажмите чтобы выделить клетки.

Меню канала флуоресценции отображается только при анализе флуоресценции и предназначено для изменения источника света при оценке состояния клеток, экспрессирующих флуоресцентные белки или меченных флуоресцентными красителями.

Нажмите для просмотра гистограммы, как показано на рис. ниже. Вы можете выбрать просмотр гистограммы для методов в светлом поле или анализа флуоресценции. Гистограмма в режиме светлого поля показывает распределение клеток по размеру, тогда как гистограмма клеток с флуоресценцией показывает распределение интенсивности в ОЕФ.



Рис. 5-11

Кнопки соответствующих функций см. в разделе о методах анализа в светлом поле.

5.3 Сохранение результатов

После подсчета клеток вы можете выбрать сохранение/экспорт исходного изображения, маркировку клеток на изображении, профили подсчета, отчет о подсчете клеток и другие функции, а также создать правила присвоения названий по умолчанию для экспорта результатов.

Нажмите [Save as], чтобы сохранить результаты на компьютере в различных форматах и/или на внешнем носителе. Нажмите [OK] для перехода на начальную страницу [Home] и автоматического сохранения результатов на компьютере и/или внешнем носителе под системным названием по умолчанию.

Примечание: в системе можно сохранить до 1000 результатов. После этого лимита новые результаты подсчета будут сохраняться взамен старых в порядке очередности.

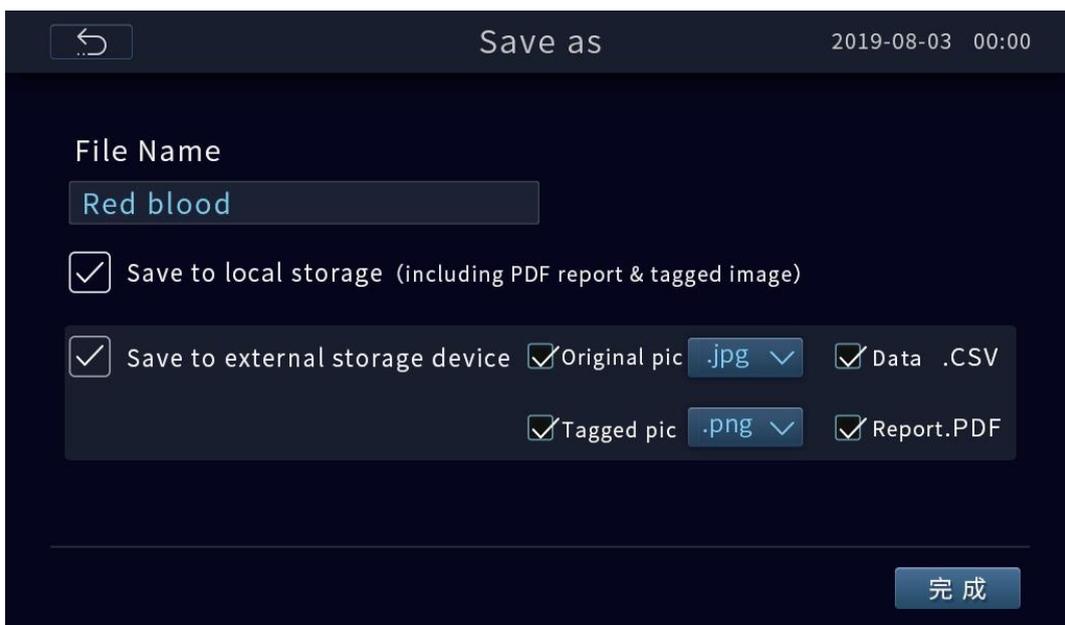


Рис. 5-12

5.4 Предыдущие подсчеты

Нажмите [Previous Counts] в главном меню. На появившейся странице можно просматривать или удалять результаты предыдущих подсчетов, экспортировать их на внешнее устройство для хранения.

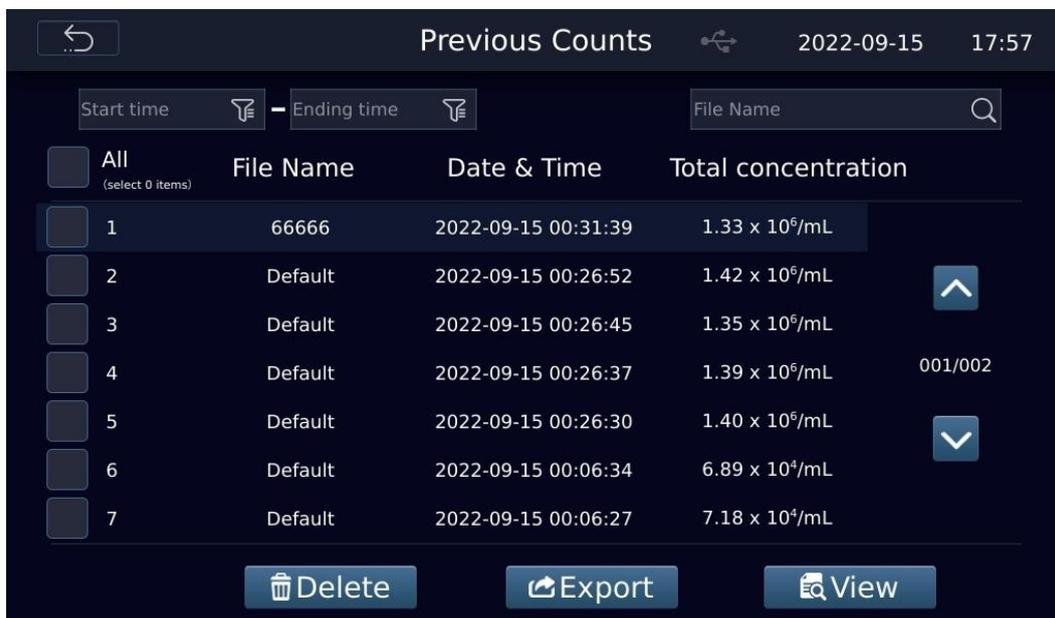


Рис. 5-13

5.5 Настройки системы

Нажмите [System Settings] в главном меню. На появившейся странице доступны такие действия, как обновление программного обеспечения (ПО), установка даты/времени, изменение языка, сброс значений флуоресцентного куба (для замены флуоресцентной колонки) и функции администратора.

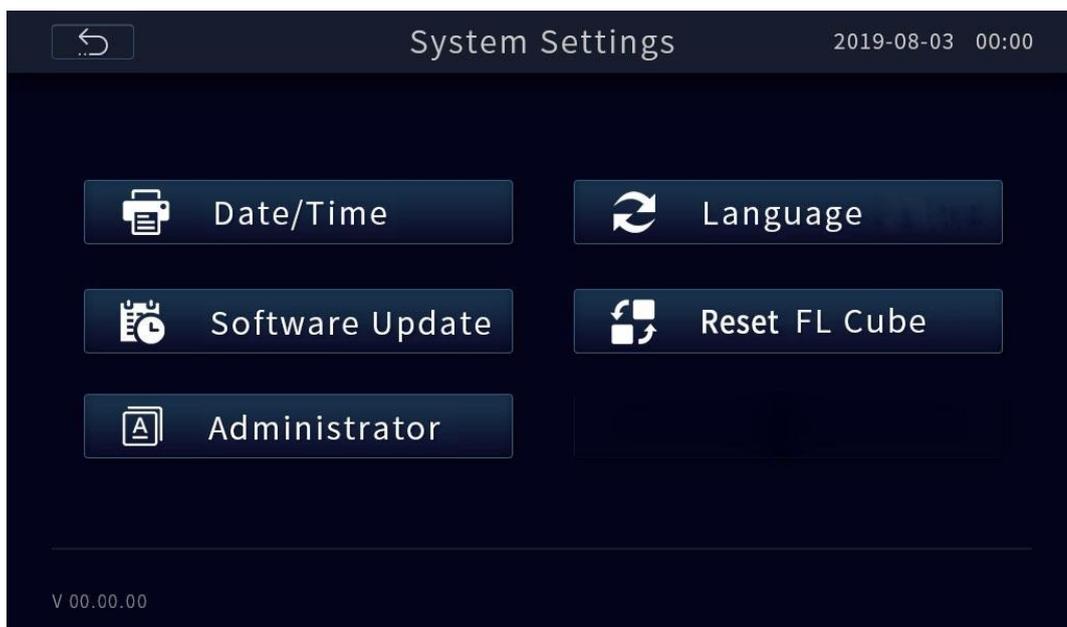


Рис. 5-14

5.5.1 Обновление программного обеспечения

На инструмент можно установить последнюю версию ПО через USB порт.

Способ: перед обновлением необходимо скопировать последнюю версию ПО на USB-носитель и вставьте его в USB-порт. Когда система успешно идентифицирует ПО на USB-носителе, она перейдет в состояние обновления, как показано ниже. Нажмите [Software Update] в меню [System Settings] (настройки системы), введите правильный пароль и действуйте согласно подсказкам.

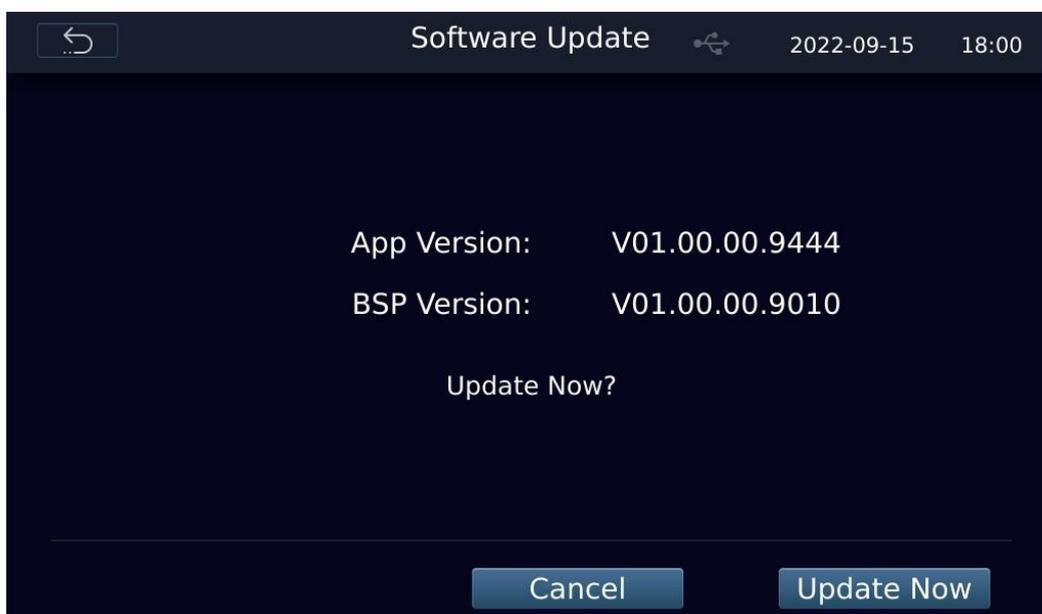


Рис. 5-15

5.5.2 Замена флуоресцентного куба

- 1) Нажмите на [Reset FL Cube] на странице подменю [System Setting], чтобы переместить флуоресцентный куб вверх. После успешного сброса замените флуоресцентный куб, выключив питание на приборе и отсоединив его от сети.
- 2) Подготовьте новый флуоресцентный куб, ослабьте фиксирующий винт черной

покрывной панели, вращая его против часовой стрелки, и снимите заднюю покрывную панель, открыв две флуоресцентные колонки, закрепленные внутри счетчика клеток.

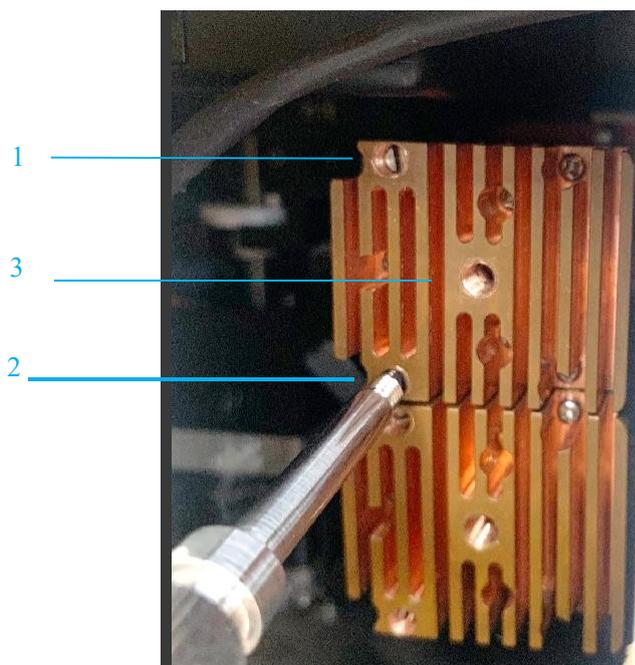


Рис. 5-16

- 3) Извлеките отвертку из черной панели;
- 4) Выберите нужный флуоресцентный куб для замены, ослабьте винт 1 и винт 2 на кубах, вращая их против часовой стрелки, затем вставьте отвертку в отверстие 3 в центре куба и вращайте до упора, после чего вытащите куб и отвертку горизонтально.
- 5) Установите подготовленный куб в исходное положение и прочно закрепите. Повторите то же с другим кубом.

6-Обслуживание

6.1 Ежегодный осмотр

RWD рекомендует проводить подробную проверку автоматического счетчика клеток ежегодно, чтобы гарантировать его хорошее рабочее состояние. Для получения подробной информации обратитесь в RWD. Рекомендуется регулярно очищать инструмент во избежание накопления пыли, мешающей его работе и вызывающей загрязнение. Способы очистки см. ниже.

6.2 Очистка

- **Очистка сенсорного экрана**
 - Осторожно протирайте сенсорный экран мягкой безворсовой тканью, увлажненной жидкостью для очистки ЖК экранов. Будьте осторожны и внимательны. Сразу после очистки вытрите экран насухо.
 - Не допускайте попадания чистящей жидкости в кнопку включения питания, гнездо провода питания, порт для счетной камеры или USB-порт.
 - Никогда не лейте и не распыляйте какие-либо жидкости на инструмент, включенный в сеть, во избежание поражения электрическим током.
 - Не используйте едкие чистящие растворы во избежание царапин на сенсорном экране.
- **Очистка корпуса**
 - Протирайте корпус мягкой тканью, не оставляющей волокон, смоченной дистиллированной водой. Сразу после очистки вытрите корпус насухо.
 - Не допускайте попадания воды или других растворителей в кнопку включения питания, гнездо провода питания, порт для счетной камеры или USB-порт.
 - Никогда не лейте и не распыляйте какие-либо жидкости на инструмент, включенный в сеть, во избежание поражения электрическим током.
- **Обеззараживание инструмента**
 - Протирайте корпус мягкой тканью, не оставляющей волокон, смоченной 70% спиртом. Сразу после очистки вытрите корпус насухо.
 - Не пользуйтесь растворами отбеливателя, так как на поверхности могут остаться кристаллы.
 - Не допускайте попадания воды или других растворителей в кнопку включения питания, гнездо провода питания, порт для счетной камеры или USB-порт.

Никогда не лейте и не распыляйте какие-либо жидкости на инструмент, включенный в сеть, во избежание поражения электрическим током.

7-Устранение неисправностей

В этом разделе описаны распространенные проблемы (неисправности) этого изделия, их возможные причины и способы устранения.

Проблема	Решение
При автофокусе не удается получить резкие изображения клеток	Убедитесь в отсутствии пузырьков или наличия мусорного материала, мешающих автоматической фокусировке.
Очень сильная флуоресценция, проходящая через другие оптические фильтры.	Уменьшите значение ОЕФ перед подсчетом клеток.
Устройство USB не распознано	<ol style="list-style-type: none"> 1) USB-носитель может иметь формат, отличный от FAT32. Перед работой отформатируйте его в формат FAT32; 2) Возьмите другой USB-носитель в нужном формате
Не удалось обновить ПО	<ol style="list-style-type: none"> 1) Убедитесь, что USB-носитель имеет формат FAT32, И скачайте файл на USB-носитель для обновления ПО. 2) Файл должен быть сохранен в корневой директории USB, а не в каталоге или подкаталоге. 3) Файл должен быть неповрежденным, с расширением .zip.
Предупредительное сообщение "Motor jammed, please contact the after-sales personnel!"	Выключите питание и обратитесь в отдел сервисного обслуживания RWD
Предупредительное сообщение "FL Cube motor error, FL Mode will be disabled!"	Выключите питание выключателем и обратитесь в отдел сервисного обслуживания RWD
Предупредительное сообщение "FL Cube sensor error, FL Mode will be disabled!"	Выключите питание выключателем и обратитесь в отдел сервисного обслуживания RWD

Контактная информация сервисных центров

Сервисный центр Диаэм в Москве:

Адрес: 129345, г. Москва, ул. Магаданская, д.7, стр.3

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный)

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Сервисный центр Диаэм в Новосибирске:

Адрес: 630090, Новосибирск, Академгородок, пр. Ак. Лаврентьева, 6/1, офис 100А

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), +7 (383) 328-00-48

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

Сервисный центр Диаэм в Казани:

Адрес: 420111, Казань, ул. Профсоюзная, д.40-42, пом. № 8

Тел.: +7 (495) 745-05-08 (многоканальный), +7 (843) 210-2080

E-mail: service@dia-m.ru

www.dia-m.ru

000 «Диаэм»

Москва

ул. Магаданская, д. 7, к. 3 ■ тел./факс: (495) 745-0508 ■ sales@dia-m.ru

www.dia-m.ru

С.-Петербург

+7 (812) 372-6040
spb@dia-m.ru

Новосибирск

+7(383) 328-0048
nsk@dia-m.ru

Воронеж

+7 (473) 232-4412
vrn@dia-m.ru

Йошкар-Ола

+7 (927) 880-3676
nba@dia-m.ru

Красноярск

+7(923) 303-0152
krsk@dia-m.ru

Казань

+7(843) 210-2080
kazan@dia-m.ru

Ростов-на-Дону

+7 (863) 303-5500
rnd@dia-m.ru

Екатеринбург

+7 (912) 658-7606
ekb@dia-m.ru

Кемерово

+7 (923) 158-6753
kemerovo@dia-m.ru

Армения

+7 (094) 01-0173
armenia@dia-m.ru

