



Agilent Seahorse Bioscience XF^e96 Extracelulární průtokový analyzátor

Manuál



Část #102608-400 Rev D

První edice:

102608-400 Rev A Prosinec 2012

Přehled provedených revizí:

Revize A: První vydání Prosinec 2012

Revize B: Prosinec 2012

Revize C: Leden 2013

Revize D: Duben 2013

Autorská práva:

Copyright ©2013 Seahorse Bioscience Inc. Všechna práva vyhrazena.

Informace o ochranné známce:

Microsoft, Windows a Excel jsou registrované ochranné známky společnosti Microsoft Corporation. Všechny ostatní obchodní značky jsou majetkem příslušných vlastníků.

HPST, s.r.o.

Na Jetelce 69/2

190 00 Praha 9

Dotazy na technickou podporu nebo komentáře k této dokumentaci odesílejte na:

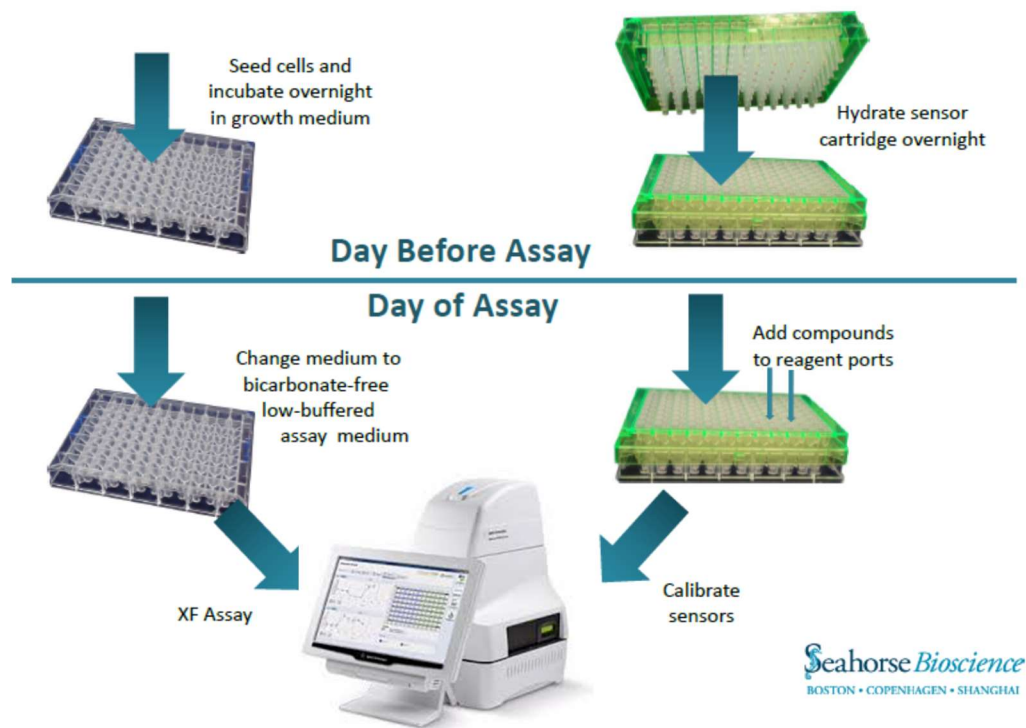
dgg@hpst.cz

Nejnovější informace o produktech najdete na našich internetových stránkách:

www.hpst.cz

Agilent Seahorse Bioscience

Obecný diagram pro XF analýzy



Agilent Seahorse Bioscience

Obsah

Obsah	4
Úvod	
1. Přehled a použití přístroje Agilent Seahorse Bioscience XF ^e	5
2. Technické specifikace	6
3. Přístroj XF ^e a HD LCD dotykový displej – instalace	
Vybalení a identifikace komponent	7
Vhodná lokalita pro přístroj	9
Odstranění přepravní kazety	10
Vnitřní komponenty přístroje XF ^e 96	11
Nastavení a propojení: Instalace kabelů	12
Bezpečnostní opatření	13
4. Základní funkce přístroje XF ^e 96	
Zapnutí přístroje a zahřátí	14
Přihlášení do softwaru XF ^e Wave	15
Čištění a běžná údržba	16
Dodatky:	
I. Řešení problémů	18
II. Kontakt na technickou podporu a informace pro objednání	18
III. Uživatelské příručky XF ^e Wave Software	18

Agilent Seahorse Bioscience

Úvod

1. Přehled a použití přístroje Agilent Seahorse Bioscience XF^e

Přístroj Agilent Seahorse Bioscience XF^e měří paralelně dvě hlavní energetické dráhy v buňce – mitochondriální respiraci a glykolýzu – v živých buňkách a v reálném čase. Tento unikátní systém měří rychlost změny rozpuštěného kyslíku a pH v mediu s živými buňkami kultivovanými v mikrodestičce. Změny v extracelulárním mediu jsou způsobeny spotřebou nebo produkcí analytu buněk, proto citlivé měření toku v mediu lze použít k určení rychlosti buněčného metabolismu s velkou přesností a zcela neinvazivní metodou, bez nutnosti značení buněk.

Unikátní vlastností technologie XF je její schopnost provádět přesná a opakovatelná měření za pouhých pět minut. Toho se dosáhne tím, že se izoluje extrémně malý objem média (méně než 3 µl) nad buněčnou monovrstvu. Buněčný metabolismus způsobuje rychlé, snadno měřitelné změny "mikroprostředí" v tomto malém objemu.

Typicky, cyklus měření probíhá 5-8 minut. Média jsou jemně promíchaná a hladina analytu se pak bude měřit, dokud koncentrace kyslíku neklesne přibližně o 20-30% a pH neklesne přibližně o 0,1 -0,2 pH jednotky. Měření se provádí pomocí optických fluorescenčních biosenzorů vložených v jednorázové kazetě, která je umístěna do speciálně navržené Agilent Seahorse Bioscience mikrotitrační destičky pro tkáňové kultury.

Výchozí metabolická rychlost se obvykle měří 3-4 krát, a hodnoty jsou uvedeny v pmol/min pro OCR (Oxygen Consumption Rate) a v mpH/min pro ECAR (Extracellular Acidification Rate). Sloučenina se pak přidá do médií, zamíchá a měří se OCR a ECAR, opakovaně. Jak mění metabolický profil buněk, tak se mění vztah mezi OCR a ECAR.

Vzhledem k tomu, že XF^e měření jsou nedestruktivní, buňky mohou být sledovány v průběhu minut, hodin nebo dní.

Přístroj XF^e se skládá z analyzátoru s dotykovou obrazovkou, balení jednorázových sensorových kazet a kultivačních mikrodestiček, kalibračního roztoku a softwaru XF^e Wave. Sensorové kazety, mikrodestičky a kalibrační činidlo jsou zabaleny a prodávány v sadách pod obchodním názvem "FluxPaks". Složení jednotlivých FluxPak se liší. Pro více informací navštivte stránky www.hpst.cz nebo napište na dgg@hpst.

Agilent Seahorse Bioscience

2. Technické specifikace

Model	XF^e96
Rozměry	Šířka x výška x hloubka
LCD dotykový displej	19" x 17" x 12" 48 cm x 43 cm x 30 cm
Přístroj	16" x 24" x 17" 41 cm x 61 cm x 43 cm
Váha	LCD dotykový displej: 22lbs. / 9kg Přístroj: 35lbs. / 14kg
Požadavky na napájení	100-240V AC 50/60Hz 6A přístroj 3.2A LCD dotykový displej
Typ napájecího kabelu	3- drátový (uzemněný) AC napájecí kabel 10A nebo vyšší
Typ napájecí pojistky	10A
Environmentální podmínky	"Normální" environmentální podmínky - vnitřní použití, nadmořská výška do 2000 m
Pokojeová teplota (rozsah)	+ 64 ° F - 86 ° F / + 18 ° C - 30 ° C Bez přímého slunečního světla Vlhkost nižší než 80% při teplotě do 31 ° C, lineárně klesající na 50% při teplotě 40 ° C
Vnitřní teplota a prostředí	Rízeno uživatelem tak, aby zvolená teplota byla nejméně 10 ° C nad okolní teplotou Bez CO₂ kontroly
Software OS	Windows 7
Datové rozhraní	RS232c (vnitřní) TCP / IP (vnější) USB typ B

Agilent Seahorse Bioscience

3. Přístroj XF^e a HD LCD dotykový displej - instalace

**** XF^e přístroje musí být instalovány pouze proškoleným HPST servisním technikem****

Vybalení a identifikace komponent

XF^e přístroj je balený do dvou krabic.

Při převzetí zásilky je nutné okamžitě zkontrolovat každou krabici kvůli poškození. Škoda způsobená během přepravy musí být ohlášena přepravci a společnosti HPST s.r.o. Kontaktní informace najdete na straně 2 tohoto dokumentu.

Následující položky jsou součástí zařízení XF^e:

Přístroj XF^e - je teplotou kontrolovaný přístroj, který obsahuje všechny optické a elektronické měřicí komponenty pro měření kyslíku a protonového proudu v buňkách pěstovaných v XF buněčných kultivačních destičkách. Přístroj je používán ve spojení s XF senzorovými kartridžemi.

HD LCD dotykový displej – ovládání přístroje je prováděno přes barevnou LCD dotykovou obrazovku vysokého rozlišení, která může být instalována na přední straně nebo vedle XF^e přístroje. LCD dotykový displej komunikuje s přístrojem použitím jednoho sériového kabelu a jednoho USB A-B kabelu. LCD dotykový displej komunikuje s PS (nepovinná) přes jeden USB/sériový adaptérový kabel s DB9-DB25 modemový kabelem.

Agilent Seahorse Bioscience



XF^e extracelulární průtokový analyzátor

Přístroj XF^e vyžaduje dvě osoby pro zvednutí a bezpečnou manipulaci. Každý člověk by měl stát na jedné straně (naproti sobě) a pevně držet základ jednotky. Používejte OSHA standardy pro zdvihací techniky.

Následující položky jsou zahrnuty v dodaném balení pro XF^e přístroj a LCD dotykový displej:

Přístroj / LCD dotykový displej	Množství	
Přístroj XF ^e	1	
XF ^e LCD dotykový displej	1	

Napájecí kabel (přístroj)	1	
Napájecí kabel (LCD dotykový displej)	1	
Napájecí zdroj (LCD dotykový displej)	1	
RS232 kabel	1	
USB kabel	1	
USB prodlužovací kabel	1	
Náhradní ventilátorové filtry	2	

Vhodné umístění přístroje XF^e

Přístroje XF^e jsou určeny pro použití v laboratoři. Vnitřní prostředí analyzátoru je řízeno teplotou přednastavenou uživatelem, a proto laboratorní pokojová teplota musí být udržována v rozsahu vypsáno ve specifikační tabulce. Teplota analyzátoru může být sledována na displeji na pravé straně analyzátoru. XF^e používá optickou detekční technologii k měření extrémně nízké úrovně fluorescenční emise senzorů analytu. Analyzátor by měl být umístěn na takovém místě, aby nebyl vystaven přímému slunečnímu světlu.

Agilent Seahorse Bioscience

Servisní technik společnosti HPST s.r.o. odstraní přepravní ochranné komponenty na XF^e přístroji během instalace

**** XF^e přístroje musí být instalovány pouze proškoleným HPST servisním technikem****

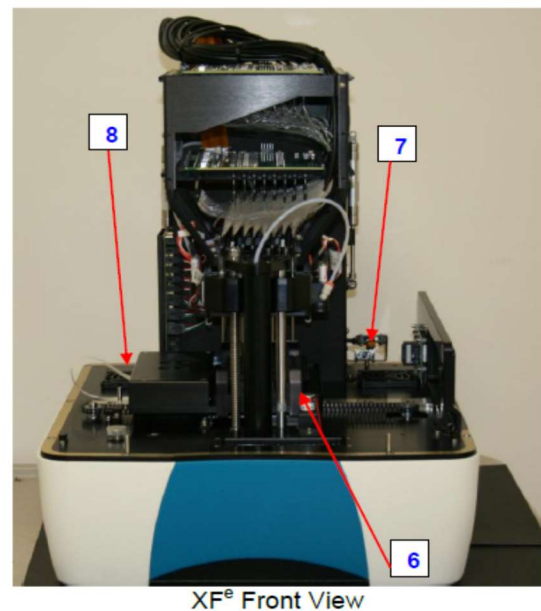
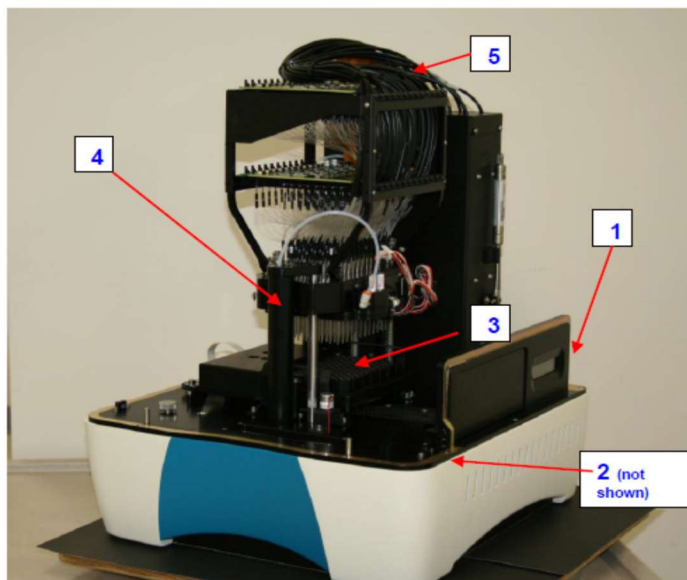
Analyzátor je dodáván s ochrannými částmi, které musí být před použitím odstraněny. Společnost HPST s.r.o. doporučuje, aby tyto komponenty odstranil proškolený HPST servisní technik během instalace. Aby nedošlo k poškození během přepravy, přístroj je poslán s kazetou na hlavě sondy a snížen na úroveň destičky na základní desce. Tyto položky musí být odstraněny před prvním použitím. Proškolený HPST servisní technik je proto odstraní během instalace.

Agilent Seahorse Bioscience

Vnitřní komponenty přístroje XF^e

Měřicí komora je srdcem XF^e analyzátoru. Odstraněním bočních dveří se odkrývá komora, ve které se provádí testy. Elektrooptický hardware je uzavřen v kleci v zadní komoře, jež je připojena k hlavě sondy prostřednictvím svazku kabelů z optických vláken. Základna krytu obsahuje primární počítačovou desku a sestavu hořáků. Následující část popisuje každé z hardwarových prvků vyobrazených na obrázku níže:

1. **LCD textová obrazovka** - zobrazuje aktuální činnost přístroje a vnitřní teplotu
2. **Zakryté západky** - táhnutím členitých ručních držadel tvarovaných v křídlových dveřích (nejsou zobrazeny), dojde ke zvednutí a vystavení vnitřních komponent přístroje
3. **Tepelný zásobník**
4. **Hlava sondy a dávkovací systém** - hlava sondy se skládá z 96 "světlovodů" nesoucích optické signály do a ze snímačů. Dávkovací systém používá stlačený vzduch pro vstřikování sloučenin nadávkovaných do portů sensorových kazet
5. **Optické svazky**
6. **Přední páskové rameno** - používá se pro odstranění sensorové kazety na konci testovacích jízd
7. **Čtečka čárových kódů** - čte čárový kód na sensorové kazetě a kultivační destičce
8. **Cirkulující ventilátor** - pomáhá stabilizovat prostředí uvnitř XF^e analyzátoru



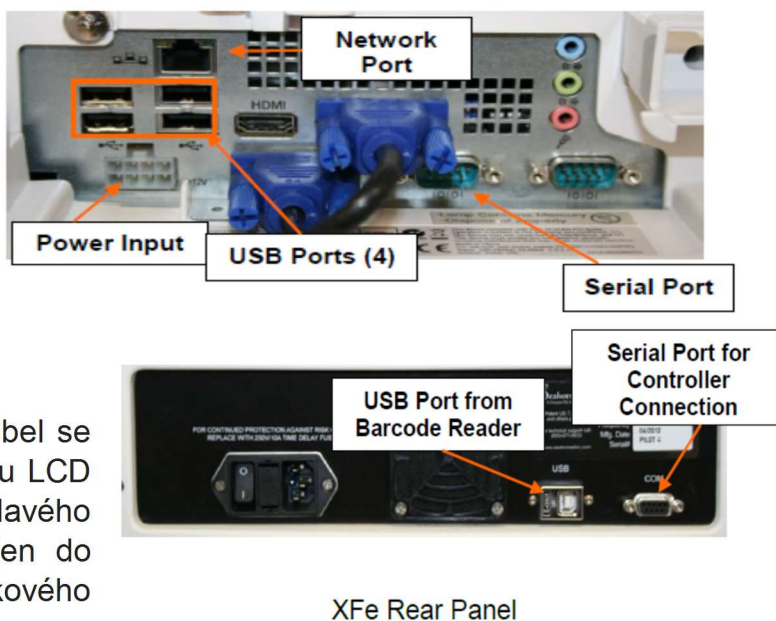
Agilent Seahorse Bioscience

Nastavení a propojení: Instalace kabelů

XFe^e analyzátor je ovládán z dotykové obrazovky monitoru počítače, který je umístěn na stojanu a označen jako LCD dotykový displej. Komunikaci příkazů a dat mezi přístrojem a LCD dotykovým displejem zajišťují jeden RS232 kabel a jeden USB kabel.

LCD dotykový displej může být připojen k externí síti prostřednictvím portů na spodní straně.

V části Technických specifikací naleznete souhrn kabelů, jež se odkazují v diagramech (po pravé straně) na identifikaci zástrček.



1. Připojte napájecí kabel

Napájecí kabel se používá pro připojení přístroje k uzemněné AC (elektrické) zástrčce. Druhý napájecí kabel se používá pro připojení napájecího modulu LCD dotykového displeje ke zdroji střídavého proudu. Napájecí modul je pak připojen do zástrčky ve spodní části LCD dotykového displeje.

2. Připojte datové kabely k analyzátoru

Kabel RS232 spojuje sériový port LCD dotykového displeje do zástrčky analyzátoru označené "COM".

Druhý kabel (USB) spojuje zástrčku analyzátoru označenou "USB" s USB portem na LCD dotykovém displeji přímo sousedícím s network (Ethernet) portem. Tento port musí být použit pro správné fungování přístroje a čtečky čárových kódů (viz diagram vpravo).

3. Připojte externí síťové kabely

LCD dotykový displej může být propojen prostřednictvím ethernetového portu umístěný na jeho spodní straně.

Bezpečnostní opatření

XF^e analyzátor vyžaduje dvě osoby pro zvednutí a bezpečnou manipulaci. Každý člověk by měl stát na jedné straně (naproti sobě) a pevně držet základ jednotky. Používejte OSHA standardy pro zdvihací techniky.

Pro bezpečný provoz přístroje je potřeba, aby byl kryt pevně připevněn a dvířka k základně zásobníku zavřená. To také zabraňuje ztrátě tepla a chlazení, které mohou ovlivnit kvalitu dat.

Dvířka se otevírají automaticky, když je zásobník vysunut ven, což umožňuje obsluhu přístroje vložit nebo odebrat testovací spotřební materiál. Obsluha musí být opatrná během vkládání mikrodestičky/kazety, aby se zabránilo možnému nebezpečí sevření destičky uvnitř přístroje. Po bezpečném umístění mikrodestičky/kazety na zásobník, musí operátor odstranit ruce z prostoru zásobníku před pokračováním testu. Po vydání povelu v pokračování testu pomocí LCD dotykového displeje, se zásobník bude pomalu vracet zpět do přístroje a dvířka se zavřou.

Je-li kryt bezpečně upevněn a dvířka zásobníku zavřená, fyzický přepínač zaručuje monitorování systému. K zajištění stavu dveří se používá optický sensor.

XF^e analyzátor má ohřívač, který udržuje stabilní vnitřní teplotu systému. Obvykle se teplota udržuje na 37 °C, což je monitorováno pomocí teplotních snímačů a regulátorů vložených do zásobníku a nad zásobník. Dva ventilátory cirkulují vzduch do přetlakového prostoru, který obsahuje ohřívač. Tepelná pojistka vypne ohřívač, pokud by dosáhl abnormálně vysoké teploty.

4. Základní provoz XF^e analyzátoru

Zapnutí a zahřátí

Pro zapnutí dotykové obrazovky stiskněte vypínač na horní straně LCD dotykového displeje. Aby se zabránilo náhodnému vypnutí napájení řídicí jednotky, může být spínač vypnut v nabídce "Možnosti napájení" ovládacího panelu Windows OS v sekci "Rozšířené".

Zapnutí přístroje pomocí vypínače na zadním panelu



Na pravé straně přístroje v blízkosti vstupních dvířek, se nachází LCD textová obrazovka. Je-li přístroj zapnut, na LCD textové obrazovce se bude zobrazovat zpráva:



Je-li software XF^e spuštěn prostřednictvím LCD dotykového displeje, LCD textová obrazovka se aktualizuje a zobrazí následující zprávu. Je doporučeno nechat přístroj běžet alespoň 2 hodiny při provozní teplotě, při které se ekvilibruje nastavená teplota.



Měření se provádí pomocí vhodné XF sensorové kazety pro Váš přístroj (zakoupené výhradně od HPST s.r.o.). XF sensorová kazeta má jeden tečku s fluorofory na spodní straně každé sondy, které jsou citlivé na kyslík a koncentraci protonů, v daném pořadí. Měřením koncentrace každého analytu v průběhu času, může být vypočtena rychlost spotřeby kyslíku (OCR) a extracelulární rychlost okyselení (ECAR).

Agilent Seahorse Bioscience

Přihlášení do softwaru XF^e Wave

Spusťte XF^e Wave a přihlaste se. Výchozí uživatelské jméno a heslo bude poskytnuto HPST servisním technikem během instalace, který též doporučuje tyto údaje okamžitě změnit kvůli bezpečnosti. Nechte XF^e analyzátor zahřát na 37 ° C po dobu nejméně dvou hodin. V ideálním případě by měl být přístroj zapnutý přes noc s cílem zajistit konzistentní a přesnou teplotu. Přístroj se nezahřeje na 37 ° C, pokud je spuštěn pouze software a pouze zapnutím přístroje se nezapne ohřívač. Proto je potřeba vždy zapnout přístroj a spustit software pro správné použití systému.

XF^e Wave přihlašovací údaje



Řiďte se XF^e Wave uživatelskou příručkou (dodatek III) včetně přístroje, pro přehled uživatelského rozhraní, stejně jako provozní detaily XF^e Wave (včetně nastavení přístroje, uživatelské profily, které definují protokol testu, průběh analýzy a analýzu dat). V XF^e Wave uživatelské příručky mohou být přístupné také prostřednictvím sekce nápovědy z XF^e Wave (klikni na "Help" z domovské stránky).

Agilent Seahorse Bioscience



V uživatelské příručce XF^e Wave naleznete podrobnosti o importu a exportu datových souborů (včetně testovacích šablon a datových souborů z přístrojů z / do softwarových programů třetích stran).

XF^e Wave může být stažen a nainstalován na jakémkoli osobním počítači prostřednictvím webových stránek Agilent Technologies. Nicméně, desktop verze nesmí být nainstalována na XF^e LCD dotykovém displeji. Příkazy mohou být poskytnuty pouze skrze XF^e Wave instalovaný na LCD dotykovém displeji.

Další informace a protokoly pro přípravu médií spojené s XF testy, designem pro experimenty, běžící XF testy a analýzu XF dat, lze nalézt online na internetové adrese: <https://www.agilent.com/en/promotions/cell-analysis-technology> nebo nás můžete kontaktovat s dotazy na dgg@hpst.cz.

Čištění a běžná údržba

XF^e přístroj byl navržen pro minimální čištění a údržbu ze strany uživatele. Všechny spotřební materiál je na jedno použití a žádný z komponent přístroje se nedostane do kontaktu s buněčnou destičkou, aby nedošlo ke křížové kontaminaci, biologických a chemických látek. Nicméně, jsou tam některé menší úlohy, které mohou být prováděny uživatelem v případě potřeby.

Čištění sondy:

V případě přeplnění buněčné destičky nebo její ponechání uvnitř přístroje po delší dobu, optický povrch ve spodní části měřících sond může vyžadovat čištění. K čištění těchto optických ploch pod každou sondu použijte tyčinku s vatou a 95%

ethanol. Dávejte pozor, aby nedošlo k poškrábání povrchu a nepoužívejte čistič, který nechává usazeniny.

Náhradní vzduchový filtr:

Přibližně jednou za rok by měl být vyměněn vzduchový filtr na zadní straně analyzátoru. Pomocí šroubováku nebo dřevěné hůlky uvolníte držák filtru a tím jej odstraníte.

Agilent Seahorse Bioscience

Dodatek I - Řešení problémů

Prosím, navštivte www.hpst.cz pro FAQs (frequently asked questions)
Pro další informace, prosím kontaktujte HPST podporu nebo produktového specialistu
Email: dgg@hpst.cz;
Telefon: +420 244 001 245 / Horká linka molekulární a buněčné biologie

Dodatek II – Kontakt, podpora a objednávky

Otázky ohledně XF technologie, XF^e analyzátoru,
XF experimentálním designu, analýzy dat,
řešení problémů a dalších informací:

Email: dgg@hpst.cz

Telefon: +420 244 001 245

Pro objednání XF^e FluxPaks (včetně buněčných platíček, senzorových kartridží a kalibračního roztoku) nebo dalšího materiálu:

Email: info@hpst.cz

Telefon: +420 244 001 231

Fax: 244 001 235

Dodatek III – XF^e Wave uživatelská příručka