



	CD45-FITC	CD8-RD1	CD3-PC5
Специфичность	CD45	CD8	CD3
Клон	B3821F4A ¹	SFCI21Thy2D3 ^{2,36,37}	UCHT1 ^{2,38}
Гибридома	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c
Иммуноген	Агент трансфекции, содержащий кДНК CD45 человека	Тимоциты человека	Тимоциты человека и лимфоциты периферической крови от человека с лейкоемией Сезари
Подкласс иммуноглобулина	IgG2b ¹	IgG1 ^{2,37}	IgG1 ^{2,37}
Вид	Мышь	Мышь	Мышь
Источник	Асцитическая жидкость	Специальная среда	Специальная среда
Очистка	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография
Флуоресценция	Возбуждается при 468-509 нм / Излучает на 504-541 нм	Возбуждается при 486-580 нм / Излучает на 568-590 нм	Возбуждается при 486-580 нм / Излучает на 660-680 нм
Конъюгат	FITC (Изотиоцианат флуоросцеина)	RD1 (Фикоэритрин)	PC5 (Фикоэритрин-Су5)
Молярная концентрация	FITC/Белок: 3-10	RD1/Белок: 0,5-1,5	PC5/Белок: 0,5-1,5
Определение светорассеивания	Переднее и (или) боковое	Переднее и (или) боковое	Переднее и (или) боковое

МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО

РЕАГЕНТ ДЛЯ ПОДСЧЁТА КЛЕТОК ДЛЯ ПРОТОЧНЫХ ЦИТОМЕТРОВ COULTER® EPICS™



НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 является трёхцветным реагентом, содержащим три мышиных моноклональных антитела. Все три антитела помечены флуорохромами разных цветов. Этот реагент позволяет одновременно провести идентификацию и подсчёт CD3+, CD8+ и CD3+/CD8+ лимфоцитов при проточной цитометрии цельной крови.¹⁻³ CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/MsIgG1-RD1/MsIgG1-PC5 в качестве изотипического контроля используется для отслевивания неспецифического связывания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Популяция лимфоцитов периферической крови состоит из клеток трёх типов: Т (происходящие из тимуса), В (происходящие из костного мозга) и нулевые клетки.⁴ Эти типы клеток при микроскопии морфологически неотличимы, но могут быть идентифицированы по специфическим антигенным отличиям клеточных мембран.

Т и В лимфоциты играют главную роль в работе иммунной системы. Различные подтипы Т-лимфоцитов могут распознавать специфические антигены, функционировать как клетки-эффекторы и/или контролировать как тип, так и интенсивность клеточного и/или гуморального иммунного ответа. После активации антигеном или макрофагом посредством Т-лимфоцита, отдельные В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки, которые синтезируют и выделяют специфические иммуноглобулины (Ig).

В прошлом Т и В лимфоциты идентифицировались и подсчитывались с использованием таких клеточных маркеров, как рецептор к эритроцитам барана на Т-лимфоцитах (Е-розеток) и поверхностный мембранный иммуноглобулин (Sm) Ig на В-лимфоцитах.^{5,6} Хотя методика Е-розеток специфична для Т-лимфоцитов, её применение ограничивает то, что визуальная идентификация и самостоятельный подсчёт комплексов Т-лимфоцитов с овечьими эритроцитами возможны только через оптический микроскоп. Измерение Smlg для идентификации и подсчёта В-лимфоцитов также

ограничено тем, что другие клеточные популяции могут экспрессировать Smlg и/или связывать иммуноглобулин за счёт рецепторов к Fc-фрагменту IgG, что приведёт к ложнопозитивному результату.

Позднее были созданы моноклональные антитела для идентификации и подсчёта Т и В лимфоцитов.^{6,7} В отличие от относительно неспецифичных поликлональных антител (гетероантисыворотки) к этим клеточным популяциям, моноклональные антитела связывают отдельные специфические поверхностные антигены Т и В клеток. Это позволяет не только более точно и аккуратно подсчитать лимфоциты, но и, используя другие клеточные маркеры (TdT, антиген, относящийся к HLA-D, Smlg), идентифицировать различные стадии дифференцировки Т и В клеток.

Различные поверхностные антигены экспрессируются и исчезают на Т и В лимфоцитах в зависимости от стадии их созревания (дифференцировки) и/или функционального состояния клеток. Начав экспрессировать антиген, клетка может коэкспрессировать один или несколько из этих антигенов в течение различных периодов времени.

Экспрессия Т-лимфоцитами общих для Т-клеток поверхностных антигенов происходит в следующем порядке: CD7 (ранние протимоциты); CD2 (промежуточные протимоциты); CD5 (незрелые тимоциты), цитоплазматический CD3 (незрелые и обыкновенные тимоциты) и CD3 (зрелые тимоциты).^{3,7} Затем начинается коэкспрессия (обыкновенными тимоцитами) и чистая экспрессия (зрелыми тимоцитами) CD4 (индукторы) и CD8 (супрессоры/цитотоксические клетки).^{3,7} CD7, CD2, CD5 и CD3 продолжают коэкспрессироваться с CD4 или CD8 в течение всего процесса дифференцировки Т-лимфоцитов, в том числе и на покоящихся и активированных зрелых Т-лимфоцитах периферической крови или лимфоидной ткани.

Экспрессия В-лимфоцитами общих для В-клеток поверхностных антигенов происходит в следующем порядке: CD19 (коммитированные предшественники В-клеток/про-В клетки); CD20 (ранние пре-В клетки).^{3,7,8} CD19 и CD20 продолжают коэкспрессироваться в течение всего процесса дифференциации В-лимфоцитов, в том числе и на покоящихся и активированных зрелых В-лимфоцитах периферической крови или лимфоидной ткани. Оба антигена пропадают на последней стадии дифференцировки В-лимфоцитов, стадии плазматической клетки.

CD21 (покоящиеся зрелые В-лимфоциты периферической крови или лимфоидной ткани) и CD22 (пре-В клетки) являются поверхностными антигенами В-клеток, пропадающими при активации у зрелых В-лимфоцитов периферической крови или лимфоидной ткани.^{3,8} Поверхностная экспрессия CD22 предшествует цитоплазматической (про-В клетки).

Реагенты со специфическими моноклональными антителами, связывающими поверхностные антигены, общие для Т или В клеток, могут быть использованы для идентификации или подсчёта зрелых Т или В лимфоцитов, соответственно. Реагенты со специфическими моноклональными антителами к определённым поверхностным антигенам также могут быть использованы для определения стадии созревания (дифференцировки) и/или функционального состояния клеток. Данный тест использует моноклональные антитела CD3, CD8, и CD45 для идентификации или подсчёта зрелых Т-лимфоцитов и Т-супрессоров/цитотоксических Т-лимфоцитов за счёт специфического связывания поверхностных антител, общих для Т-лимфоцитов и Т-супрессоров/цитотоксических Т-лимфоцитов, CD3 и CD8, соответственно. Кроме того, тест позволяет одновременно исследовать различные популяции лимфоцитов в одной пробе цельной крови, используя только один реагент.

CD45

Антитело CD45 распознаёт представителей семьи общих лейкоцитарных антигенов CD45 с молекулярной массой в 180, 190, 210 и 220 kd.^{3,9,10} Он известен также как общий лейкоцитарный антиген (LCA). CD45 экспрессируется на всех гемопоэтических клетках, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников.^{11,12} Он не был обнаружен в дифференцированных негемопоэтических тканях.¹¹⁻¹⁴

CD8

Антиген CD8 обладает молекулярной массой в 68 kd.^{15,16} В норме он экспрессируется на около 80% тимоцитов, примерно 30-35% Т-лимфоцитов периферической крови и некоторых NK-клетках.^{15,17,18} CD8+ лимфоциты играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа за счёт своей супрессорной и цитотоксической активности.¹⁹⁻²¹ CD8 связывается с антигеном главного комплекса гистосовместимости I класса (MHC) на клетках-мишенях.^{15,21}

CD3

Антитело к CD3 антигену специфически связывается с эпсилон-цепью CD3 компонента комплекса Т-клеточного рецептора (TCR).^{3,22} Молекулярная масса этой цепи составляет 20 kd.²² Это специфический для

клеточной линии общий для Т-клеток антиген, в норме экспрессирующийся на поверхности зрелых тимоцитов и на покоящихся и активированных зрелых Т-лимфоцитах периферической крови (как в популяциях индукторов, так и супрессоров и цитотоксических клеток).²³⁻²⁵

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD3+ и/или CD8+ лимфоциты

Процент CD3+ и/или CD8+ лимфоцитов и их абсолютное количество могут быть использованы при оценке иммунного статуса, связанного с известными или неизвестными заболеваниями и для контроля уровня лимфоцитов после трансплантации органов.²⁶⁻³³

К примеру, идентификация аномальных уровней CD3+ и/или CD8+ лимфоцитов может помочь при диагностировании и/или прогнозировании различных аутоиммунных заболеваний, связанных с изменением количества белых клеток крови. Изменение процента CD3+ и/или CD8+ лимфоцитов, замеченное после трансплантации органа (к примеру, почки), указывает на то, что измерение чисел CD3+ и/или CD8+ лимфоцитов может оказаться полезным для отслеживания изменений этих клеточных популяций.

Соотношение T4/T8

Изменения уровней CD4+ и/или CD8+ лимфоцитов, связанное с заболеваниями, может изменить T4/T8 соотношение числа индукторов: супрессоров/цитотоксических клеток. Поэтому соотношение T4/T8 может оказаться полезным при диагностировании и/или прогнозировании в качестве индикатора индикатора иммунного статуса организма.

Соотношение T4/T8 вместе с числом CD4+ лимфоцитов широко использовались в качестве лабораторных параметров для оценки комплекса, связанного со СПИДом и собственно СПИДом.^{34, 35} У пациентов на продвинутой стадии СПИДа соотношение T4/T8 стремится к нулю, а наличие CD4+ лимфоцитов не регистрируется.³⁴ При этом уровень CD8+ лимфоцитов может быть нормальным, повышенным или пониженным.

У пациентов со стабильной функцией почечного аллотрансплантата после трансплантации наблюдается пониженный процент CD4+ и повышенный процент CD8+ лимфоцитов без значимых изменений соотношений T4/T8.⁹ Кроме того, низкие соотношения T4/T8 и пониженный процент CD4+ лимфоцитов наблюдался у пациентов во время фенотипического восстановления после аутологичной трансплантации очищенного костного мозга.^{31,32}

ПРИНЦИПЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

Этот тест основан на способности моноклонального антитела связываться с поверхностью клеток, экспрессирующих определённые антигенные детерминанты. CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 является комбинацией трёх мышинных моноклональных антител, специфических к разным поверхностным антигенам. Специфическая окраска клеток достигается за счёт инкубации цельной крови с трёхцветным реагентом CYTO-STAT triCHROME. Вторая идентичная проба крови метится изотопическим контролем CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/MslgG1-RD1/MslgG1-PC5 для оценки неспецифической фоновой флуоресценции. Красные клетки крови подвергаются лизису, а оставшиеся белые клетки крови анализируются с помощью проточной цитометрии с использованием селекторов лимфоцитов. На первой гистограмме селектор лимфоцитов определяется как содержащий яркую CD45+ FITC флуоресценцию и низкое боковое рассеяние (SS). На второй гистограмме процент положительно-окрашенных клеток определяется для четырёх квадрантов: CD3-/CD8+ (только

положительная RD1 флуоресценция), CD3+/CD8+ (положительная PC5/RD1 флуоресценция), CD3-/CD8- (отрицательная PC5/RD1 флуоресценция) и CD3+/CD8- (только положительная PC5 флуоресценция).

РЕАГЕНТ

Смотрите таблицу странице 1.

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Концентрация антител — 2,0/0,5/0,5 µg/тест.

Кроме антител, в состав реагентов входят 0,2% БСА, 0,01 М фосфата калия, 0,15 М NaCl, 0,1% NaN₃ и стабилизаторы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

1. Этот реагент содержит 0,1% азида натрия. Азид натрия в кислой среде образует азотистоводородную кислоту, являющуюся исключительно токсичным соединением. Во время утилизации соединения азидов следует смывать проточной водой. Рекомендуется соблюдение этих предосторожностей для избежания образования отложений в металлических трубах, что может создавать взрывоопасные условия. При попадании в глаза или на кожу, тщательно промойте водой.
2. С образцами, пробами и всеми материалами, с ними соприкасающимися, следует работать как с потенциально передающими инфекцию и утилизировать их с соответствующими мерами предосторожности.
3. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте контакта проб с кожей и слизистыми оболочками.
4. Не используйте антитело после даты истечения срока годности, указанной на этикетке флакона.
5. Минимизируйте воздействие света на реагент при хранении или инкубации.
6. Избегайте бактериального загрязнения реагентов, так как оно может привести к ошибочным результатам.
7. Следуйте надлежащей лабораторной практике (GLP) при работе с этим реагентом.
8. При попадании в организм существует опасность отравления.
9. При попадании на кожу немедленно промойте большим количеством воды.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Невыскранный реагент сохраняет стабильность до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 2-8°C. Открытый реагент сохраняет стабильность в течение 90 дней после вскрытия при хранении при температуре 2-8°C. Сразу после использования верните реагент к 2-8°C. Не замораживайте. Минимизируйте воздействие света.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

Любое внешнее изменение реагента (в норме это прозрачная розовая жидкость) или значительные колебания значений контрольных показателей могут указывать на разрушение реагента, и в таком случае его не следует использовать.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Подготовки не требуется. Моноклональное антитело CYTO-STAT triCHROME используется прямо из флакона.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

ВНИМАНИЕ: Стабильность проб крови очень изменчива. Для оптимальных результатов начинайте анализ в течение 6 часов после венопункции. Непомеченная, предохраняемая от свёртывания кровь до начала процедуры должна храниться при температуре 20-25°C. Не охлаждайте.

Заберите венопункцией в асептических условиях пробу венозной крови в пробирку для забора крови, используя соответствующий антикоагулянт (рекомендуется ЭДТА).³⁹ Для каждого теста требуется 100 µL цельной крови. Соберите достаточно крови (от 1 до 2 mL на пробирку) для проведения тестов и постановки контроля, и храните аутологичную плазму на случай необходимости разведения пробы. Подсчёт белых кровяных клеток и проверка жизнеспособности клеток должны быть проведены, следуя установленной лабораторной процедуре, для каждого образца венозной крови. Рекомендуемая жизнеспособность клеток — ≥90%, но её может быть сложно добиться в некоторых аномальных образцах.

ПРОЦЕДУРА ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО МЕЧЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ CYTO-STAT triCHROME

ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 Ч.№ 6607017 - 50 тестов (0,5 mL)

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Агент лизиса эритроцитов (при необходимости). Система реагентов COULTER® IMMUNOPREP™ для рабочей станции COULTER Q-PREP™ Ч.№ 7546946 – 100 тестов

Разбавитель (при необходимости) аутологичная плазма

ИЛИ

Система реагентов COULTER IMMUNOPREP для рабочих станций COULTER MULTI-Q-PREP™ или TQ-Prep™, Ч.№ 7546999 – 300 тестов

Разбавитель (при необходимости) аутологичная плазма

CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/MslgG1-RD1/MslgG1-PC5, Ч.№ 6607019 – 50 тестов (0,5 mL)

Комплект реагентов CYTO-COMP™, Ч.№ 6607021

Комплект клеток CYTO-COMP, Ч.№ 6607023

COULTER CYTO-TROL™ Control Cells, Ч.№ 6604248 - 50 тестов

Флуоросферы Flow-Count™, Ч.№ 7547053 (дополнительный реагент)

тест-пробирки 12 x 75 mm

Пробирки для забора цельной крови с антикоагулянтом (рекомендуется ЭДТА)

Пипетки для переноса

Пастеровские пипетки

Микропипетки

Вихревой смеситель

Проточный цитометр (Обратитесь к главе Требуемое оборудование)

Счётчик клеток или гематометр

Фильтр (для COULTER EPICS XL™/XL-MCL™ только с 3 сенсорами флуоресценции), Ч.№ 6915056

ТРЕБУЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Проточный цитометр, который обеспечивает намагничивание и измеряет испускание светорассеивания и флуоресценцию, как указано в таблице на странице 1 и применимо для Вашего специфического продукта. Пользователи должны обратиться к руководствам изготовителя прибора за специфическими инструкциями для установки напряжения фотоэлектронного умножителя и флуоресцентной компенсации до проведения анализа.

ПРОЦЕДУРА

1. Оптимальное мечение достигается при количестве белых клеток крови в пределах $3-10 \times 10^3$ клеток/ μL . При числе белых клеток крови, превышающих 10×10^3 клеток/ μL необходимо разбавление, а при числе белых клеток крови ниже 3×10^3 клеток/ μL необходимы центрифугирование и ресуспензирование для получения чисел в пределах $3-10 \times 10^3$ клеток/ μL . При использовании систем реагентов COULTER Q-PREP/IMMUNOPREP или COULTER MULTI-Q-PREP/IMMUNOPREP в качестве разбавителя рекомендуется использовать аутологичную плазму.

Аномальные пробы

- a. Большое число белых клеток крови ($>10 \times 10^3$ клеток/ μL)
 - 10-20 $\times 10^3$: Разбавьте кровь 1:2.
 - 20-30 $\times 10^3$: Разбавьте кровь 1:3.
 - 30-40 $\times 10^3$: Разбавьте кровь 1:5.
 - 40-60 $\times 10^3$: Разбавьте кровь 1:6.
 - 60-100 $\times 10^3$: Разбавьте кровь 1:10.
 - 100-200 $\times 10^3$: Разбавьте кровь 1:20.
 - b. Малое количество белых клеток крови ($<3 \times 10^3$ клеток/ μL) – Используйте метод лейкоцитных плёнок
 - 1) Центрифугируйте кровь при 20-25°C на 500 x g в течение 5 минут.
 - 2) Отберите лейкоцитную плёнку пастеровской пипеткой, забрав частично красные клетки крови и немного плазмы, чтобы быть уверенным, что все белые клетки крови извлечены.
 - 3) Полностью ресуспензируйте клетки, несколько раз перемешав пастеровской пипеткой.
 - 4) Определите концентрацию клеток, используя счётчик клеток или гематиметр.
 - 5) Доведите разбавителем концентрацию клеток до 10×10^3 клеток/ μL .
2. Для каждой пробы промаркируйте тест-пробирку 12 x 75 mm, одну под моноклональные антитела и другую под изотипический контроль. Добавьте в соответственно маркированную тест-пробирку 10 μL of CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 или CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/MslgG1-RD1/MslgG1-PC5.
 3. Добавьте в каждую тест-пробирку по 100 μL пробы венозной крови. Следует избегать загрязнения краев или стенок тест-пробирок кровью, потому что это может привести к неполному лизису.
 4. Аккуратно смешайте, пользуясь вихревым смесителем. Инкубируйте реакционные смеси при 20-25°C в течение 10-12 минут.

ВАЖНО: Если капли реагента остаются у края тест-пробирки, их следует удалить, иначе нелизированные красные кровяные клетки могут загрязнить образец и исказить результаты. Для их удаления можно использовать ватную палочку.

5. Лизируйте красные кровяные клетки в каждой из тест-пробирок, следуя рекомендуемой для выбранного метода лизиса процедуре (система реагентов COULTER Q-PREP/IMMUNOPREP, система реагентов COULTER MULTI-Q-PREP/IMMUNOPREP или система реагентов COULTER TQ-Prep/IMMUNOPREP).
6. Анализируйте клетки на проточном цитометре, приспособленном для анализа многоцветной флуоресценции, правильно выровненном и использующем селектор лимфоцитов в соответствии с приведённой ниже ПРОЦЕДУРОЙ АНАЛИЗА ПРОБ. Для минимизации вероятности получения неоптимальных результатов анализировать меченые клетки следует быстро.

- a. Результаты флуоресцентной проточной цитометрии должны быть нанесены на логарифмическую шкалу.
- b. Значения бокового рассеяния должны быть нанесены на линейную шкалу.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ДЛЯ МАРКЕРОВ ЛИМФОЦИТОВ ПРОЦЕДУРА ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Убедитесь, что проточный цитометр правильно выровнен и стандартизирован для светорассеяния и интенсивности флуоресценции в соответствии с рекомендациями производителя (за ними обратитесь к руководствам по приборам).

Флуорохромы изотиоцианат флуоросцеина (FITC), фикоэритрин (RD1) и фикоэритрин-Су5 (PC5) излучают на разных длинах волн, но всё же частично их спектральные диапазоны перекрывают друг друга, что следует откорректировать с помощью электронной компенсации. Оптимальные уровни компенсации можно установить проанализировав на двухпараметрической диаграмме донорские клетки, по отдельности помеченные каждым флуорохромом. В качестве альтернативы можно окрасить клетки CYTO-COMP соответствующими комбинациями флуорохромов из комплекта реагентов the CYTO-COMP. В обоих случаях проводится регулировка для того, чтобы гарантировать отсутствие мечения в двухцветном квадранте (квадрант 2) для каждого из флуорохромов. Помеченные CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 COULTER CYTO-TROL Control Cells могут быть использованы для проверки установок компенсации.

Перед тем, как проводить анализ проб, следует пометить контрольные пробы (например, COULTER CYTO-TROL Control Cells) для проверки реактивности антител.

Специфическое и/или неспецифическое связывание Fc-фрагмента антител с моноцитами и гранулоцитами пробы можно исключить с помощью правильного селектора лимфоцитов на проточном цитометре.⁴⁰ Лимфоциты определяются как обладающие яркой CD45+ флуоресценцией и низким боковым рассеянием.⁴¹

Изотипический контроль CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/MslgG1-RD1/MslgG1-PC5 используется для определения положения курсора для учёта неспецифического связывания Fc-фрагмента с лимфоцитами пробы. Курсоры располагаются так, чтобы включить 98% (номинально) неспецифической флуоресценции в 3 квадрант. Неспецифическая флуоресценция в квадрантах 1, 2 и 4 для любой контрольной пробы обычно ограничивается 1-2% или менее процентами у здоровых представителей (если это значение оказывается выше 1-2%, результаты теста могут быть ошибочными). В случае с неопластическими заболеваниями могут быть получены более высокие значения.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА ПРОБ

ВНИМАНИЕ: Если лазер на проточном цитометре не верно выровнен или вставлены несоответствующие фильтры или неправильно установлены селекторы, результаты могут оказаться ошибочными.

1. Составьте двухпараметрическую гистограмму CD45-FITC (FL1 LOG) к SS (90° наименее значимого значения). Может быть получен трёхчастный перепад. Нарисуйте границу вокруг лимфоцитов, обладающих яркой CD45+ FITC флуоресценцией и низким боковым рассеянием (SS) (см. Рисунок 1).
2. Для изотипического контроля составьте двухпараметрическую гистограмму с использованием селектора лимфоцитов MslgG1-RD1 (FL2 LOG) и MslgG1-PC5 (FL3 LOG или FL4 LOG) (см. Рисунок 2). Выставьте Quad Stats для определения 98% (номинально) неспецифического мечения, используя изотипический контроль.
3. Для анализа проб, используйте установленные на изотипическом контроле Quad Stats и составьте двухпараметрическую гистограмму с использованием селектора лимфоцитов CD8-RD1 (FL2 LOG) и CD3-PC5 (FL3 LOG или FL4 LOG) (см. Рисунок 3).

Следующие гистограммы являются примерами нормальных проб цельной крови, помеченных CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/MslgG1-RD1/MslgG1-PC5 и CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5, лизированных с помощью системы реагентов MULTI-Q-PREP/IMMUNOPREP и проанализированных на проточном цитометре COULTER EPICS XL-MCL (4 сенсора флуоресценции) с использованием селектора лимфоцитов. Quad Stats были выставлены для определения 98% (номинально) неспецифического мечения с использованием изотипического контроля.

На Рисунке 3 общий процент CD3 положительных клеток вычислен суммированием значений 2 и 4 квадрантов. Общий процент CD8 положительных клеток вычислен суммированием значений 1 и 2 квадрантов. Процент CD3+/CD8+ положительных клеток получен прямо из квадранта 2.

Рисунок 1. Двухпараметрическая гистограмма CD45-FITC (FL1 LOG) к SS для идентификации лимфоцитов (Селектор A).

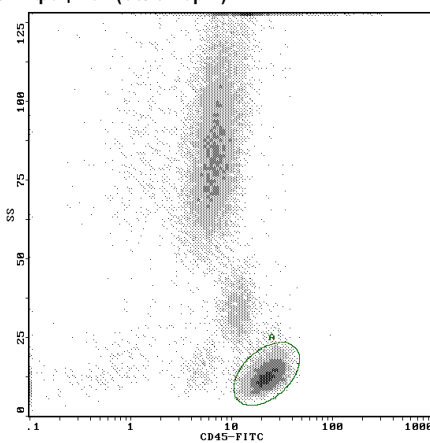


Рисунок 2. Двухпараметрическая гистограмма MslgG1-PC5 (FL4 LOG) к MslgG1-RD1 (FL2 LOG) с использованием селектора лимфоцитов (Селектор А) для установления Quad Stats.

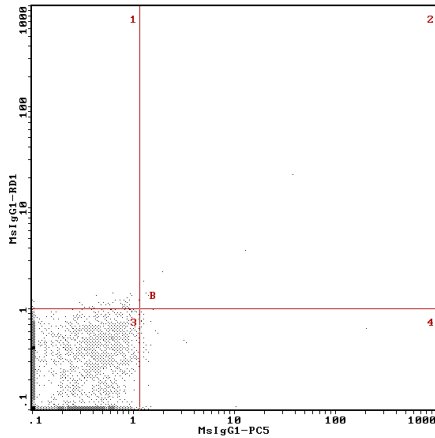
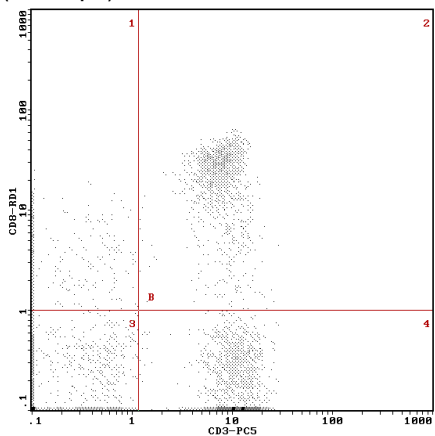


Рисунок 3. Двухпараметрическая гистограмма CD3-PC5 (FL4 LOG) к CD8-RD1 (FL2 LOG) с использованием селектора лимфоцитов (Селектор А).



АБСОЛЮТНОЕ КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК

Абсолютное количество клеток может быть установлено двумя способами. Стандартный (непрямой) метод для вычисления абсолютного количества клеток сочетает результаты гематологии и проточной цитометрии и использует следующую формулу:

$$\text{Абсолютное количество (клеток/мкл)} = \text{Общее число белых клеток крови (клеток/мкл)} \times \% \text{ лимфоцитов} \times \% \text{ положительно-окрашенных клеток} \div 10^4$$

Прямой метод Flow-Count использует флуоресферы Flow-Count для прямого определения абсолютного количества и использует следующую формулу:

$$\text{Абсолютное количество (клеток/мкл)} = (\text{Общее число клеток-мишеней} \div \text{общее число подсчитанных флуоресфер Flow-Count}) \times \text{аналитическая концентрация флуоресфер Flow-Count}$$

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Для достижения оптимальных результатов следует пометить образцы в течение 6 часов после их отбора. Отберите образцы при комнатной температуре в пробирки для забора крови перед мечением и анализом. Не охлаждайте. Охлажденные образцы могут дать anomальные результаты.

- Для минимизации вероятности получения неоптимальных результатов анализировать меченые клетки следует быстро.
- Рекомендуемая жизнеспособность клеток $\geq 90\%$, но её может быть сложно добиться в некоторых anomальных образцах.
- Продолжительное воздействие агентов лизиса на клетки может привести к разрушению белых клеток крови и потери клеток популяции-мишени.
- Часть красных клеток крови может не пройти лизис в следующих случаях: наличие ядросодержащих красных клеток крови, anomальных концентраций белков или при гемоглобинопатиях. Это может привести к ошибочно пониженным результатам из-за учёта нелизировавшихся красных клеток крови как лейкоцитов.
- Этот реагент создан для использования с препаратами цельной крови. Он может быть использован с лиофилизированным препаратом лимфоцитов COULTER CYTO-TROL Control Cells. Не рекомендуется использовать со свежими или замороженными препаратами мононуклеарных клеток.
- Этот реагент не следует разбавлять, разводить на аликвоты или замораживать. Использовать в соответствии с упаковкой.
- Этот реагент предназначен только для использования в проточной цитометрии.
- Anomальные состояния здоровья не всегда представлены anomальными процентами отдельных популяций лейкоцитов. Анализ крови пациента в таком состоянии может давать такие же проценты лейкоцитов, как и у здорового человека. Пользуйтесь результатами теста совместно с клиническими и иными диагностическими данными.
- Особые проблемы могут возникнуть с отдельными пациентами из-за изменённых или очень низких значений отдельных клеточных популяций.
- Некоторых пациентов, пролеченных ОКТ3, нельзя оценивать с использованием реагента с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5.⁴²⁻⁴⁴
- Результаты, полученные с помощью проточной цитометрии могут быть ошибочными если лазер на не верно выровнен или неправильно установлены селекторы.
- Из-за недопустимой вариабельности, выявляемой при сравнении методик различных лабораторий для определения абсолютного количества лимфоцитов, необходимо провести оценку точности используемого метода.⁴⁵

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Пробы крови были собраны у практически здоровых мужчин и женщин. Набранная популяция происходит из разнообразных мест и включает представителей населения восточных и центрально-западных штатов США, без учёта расы и по возрасту попадающих в пределы 18-85 лет (n = 197: 18-85; n = 3: возраст неизвестен). Пробы были помечены моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5. Значения, полученные с помощью проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL с использованием селектора лимфоцитов) представляют CD3+, CD8+ и CD3+/CD8+ клетки и даны в последующей таблице. Для каждой пробы были получены подсчёт белых клеток крови и трёхчастный перепад. Абсолютное количество клеток было определено с использованием стандартного (непрямого) метода. Значения, даны в виде % от общего числа лимфоцитов и абсолютного числа (клеток/ μL).

Эти значения предлагаются только в качестве примера. В каждой лаборатории следует установить собственные ожидаемые значения на основе проб от здоровых доноров из местного населения.

НОРМАЛЬНАЯ ЦЕЛЬНАЯ КРОВЬ

	n	Минимальное	Максимальное	Среднее $\pm 1SD$
% + Лимфоцитов				
CD3+	200	53	95	75,1 $\pm 6,6$
CD8+	200	12	62	29,5 $\pm 9,2$
CD3+/CD8+	200	9	60	25,6 $\pm 9,0$
Абсолютное количество				
CD3+	200	451	3572	1515 ± 527
CD8+	200	209	1830	585 ± 254
CD3+/CD8+	200	138	1820	510 ± 243

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СПЕЦИФИЧНОСТЬ:

CD45 экспрессируется на всех гемопоэтических клетках, за исключением зрелых эритроцитов и их непосредственных предшественников.^{11,12} Он не был обнаружен в дифференцированных негемопоэтических тканях.¹¹⁻¹⁴

CD8 в норме экспрессируется на около 80% тимоцитов и примерно 30-35% Т-лимфоцитов периферической крови и некоторых NK-клетках.^{15,17,18}

CD3 в норме экспрессируется на поверхности зрелых тимоцитов и на покоящихся и активированных зрелых Т-лимфоцитах периферической крови (как в популяциях индукторов, так и супрессоров и цитотоксических клеток).²³⁻²⁵

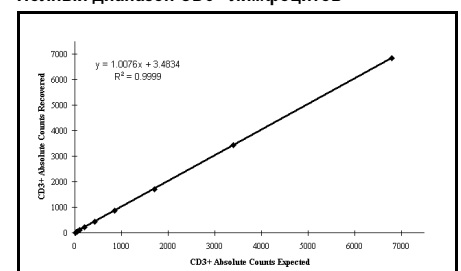
Для оценки перекрестной клеточной реактивности моноклональные антитела CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 были проверены на пробах человеческой крови здоровых взрослых доноров. Результаты единообразно показали, что CD3 и CD8 моноклональные антитела реагируют специфическим образом с соответствующими популяциями лимфоцитов.

За описанием способов контроля специфического и неспецифического мечения моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 обратитесь к ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА.

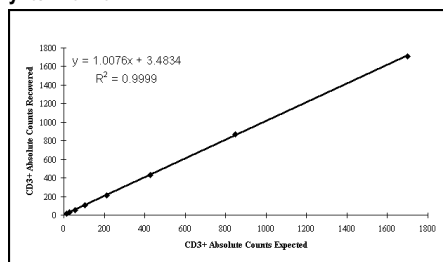
ЛИНЕЙНОСТЬ

Было проведено по три повторных измерения для каждого из 10 разведений концентрированных проб COULTER CYTO-TROL Control Cells для установления диапазона концентраций CD3+ и CD8+ лимфоцитов. Клетки были помечены реагентом с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 и проанализированы при помощи проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL с использованием селектора лимфоцитов). См. приведённые ниже графики.

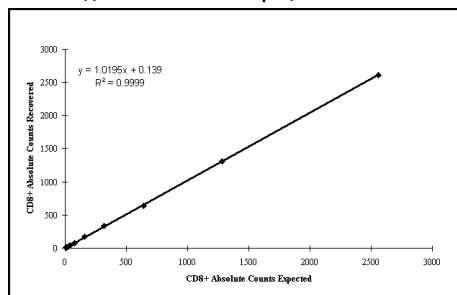
Полный диапазон CD3+ лимфоцитов



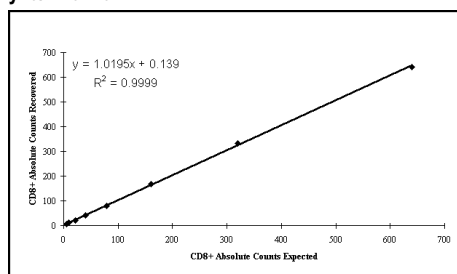
Нижняя граница диапазона CD3+ лимфоцитов, увеличение



Полный диапазон CD8+ лимфоцитов



Нижняя граница диапазона CD8+ лимфоцитов, увеличение



НАДЕЖНОСТЬ МЕТОДА

Степень совпадения между CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5 и компаративным CYTO-STAT/COULTER CLONE® CD3 (IgG1)-FITC/T8-RD1 была измерена на нормальных и аномальных лизированных пробах цельной крови при помощи проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL с использованием селектора лимфоцитов). Данные приведены в последующих таблице и рисунках, и подтверждают предположение о том, что эти реагенты эквивалентны по уровню реактивности со зрелыми Т-лимфоцитами, Т-супрессорами и цитотоксическими Т-лимфоцитами периферической крови. Значения даны в виде процента от общего числа лимфоцитов. Значения для CD3 (IgG1)-FITC/T8-RD1 были откорректированы для чистоты селектора лимфоцитов (Пределы селектора лимфоцитов: восстановление $\geq 90\%$ и чистота $\geq 85\%$).

CD3+ лимфоциты

Реагенты	n	% CD3+ клеток		
		Минимальное	Максимальное	Среднее $\pm 1SD$
CD3 (IgG1)-FITC/T8-RD1	305	6	98	76,2 $\pm 10,0$
CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5	305	7	96	75,8 $\pm 9,7$

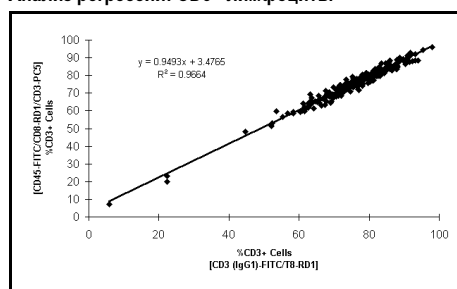
CD8+ лимфоциты

Реагенты	n	% CD8+ клеток		
		Минимальное	Максимальное	Среднее $\pm 1SD$
CD3 (IgG1)-FITC/T8-RD1	305	2	83	38,3 $\pm 17,1$
CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5	305	2	82	38,5 $\pm 16,7$

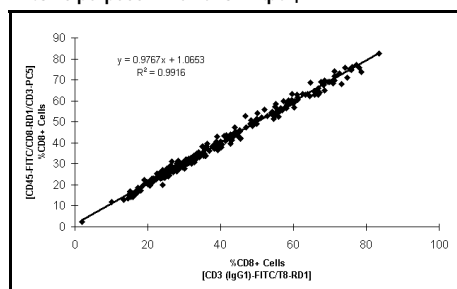
CD3+/CD8+ лимфоциты

Реагенты	n	% CD3+/CD8+ клеток		
		Минимальное	Максимальное	Среднее $\pm 1SD$
CD3 (IgG1)-FITC/T8-RD1	305	1	83	35,0 $\pm 17,8$
CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5	305	1	82	35,0 $\pm 17,5$

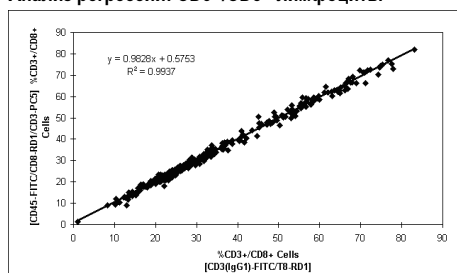
Анализ регрессии: CD3+ лимфоциты



Анализ регрессии: CD8+ лимфоциты



Анализ регрессии: CD3+/CD8+ лимфоциты



СХОДИМОСТЬ

Сходимость (внутрилабораторная)

Было проведено по десять повторных измерений для каждого из трёх уровней концентраций CD3+ и CD8+ лимфоцитов на проточном цитометре COULTER EPICS XL-MCL. Были проведены снижения числа клеток образцов нормальной цельной крови с помощью ферромагнитных частиц, связанных с моноклональными антителами для создания различных уровней значений. Клетки были помечены реагентом с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5. Значения даны в виде процента от общего числа лимфоцитов.

Концентрация	n	Средний % CD3+			Средний % CD8+		
		Средний %	$\pm 1SD$	%CV	Средний %	$\pm 1SD$	%CV
1	10	48,4	1,14	2,36	3,8	0,27	6,97
2	10	72,7	0,53	0,73	27,2	0,77	2,84
3	10	83,3	0,76	0,91	53,5	0,81	1,52

Межлабораторная

Исследования были проведены в один день тремя различными лабораториями Coulter Corporation на трёх разных проточных цитометрах. На каждом приборе было проведено по десять повторных измерений. Во всех измерениях использовался один образец от одного здорового донора. Образец крови

был разделён на три и в каждой лаборатории свой образец был помечен реагентом с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5. Значения даны в виде процента от общего числа лимфоцитов.

Лаборатория/ Прибор	n	Средний % CD3+			Средний % CD8+		
		Средний %	$\pm 1SD$	%CV	Средний %	$\pm 1SD$	%CV
1 EPICS XL-MCL	10	70,3	0,53	0,75	18,3	0,53	2,90
2 EPICS XL-MCL	10	71,5	0,60	0,84	19,2	0,71	3,68
3 EPICS XL-MCL	10	71,0	0,80	1,13	18,5	0,39	2,08

ИЗБРАННЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Schlossman SF, Bousmell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer R, Tedder TF and Todd RF, eds. 1995. Leukocyte Typing V. Oxford, UK: Oxford University Press, pp. 262, 263, 268, 270.
- Bernard A, Bousmell L, Dausset J, Milstein C and Schlossman SF, eds. 1984. Leukocyte Typing. New York: Springer-Verlag, pp. 28, 41-42, 44, 196.
- McMichael AJ, ed. 1987. Leukocyte Typing III. Oxford: Oxford University Press, pp. 38, 40, 42, 43, 116, 167, 170-172, 176, 199, 202, 206, 302-308, 315, 475, 796-801.
- Reinherz EL and Schlossman SF. 1980. The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19:821-827.
- Aiuta F, Cerottini J-C, Coombs RRA, Cooper M, Dickler HB, Froland S, Fudenberg HH, Greaves MF, Grey HM, Kunkel HG, Natvig J, Preud'homme J-L, Rabbellino E, Ritts RE, Rowe DS, Seligmann M, Siegal FP, Stjernsward J, Terry WD and Wybran J. 1975. Identification, enumeration and isolation of Band T lymphocytes from human peripheral blood. International Union of Immunological Societies (IUIS), Report - July 1974. Clin Immunol and Immunopathol 3:584-597.
- Foon KA and Todd RF. 1986. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. Blood 68:1-31.
- Drexler HG, Gignac SM and Minowada J. 1988. Routine immunophenotyping of acute leukaemias. Blut 57: 327-339.
- Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bernstein ID. 1986. Leukocyte Typing II. New York: Springer-Verlag, Vol 2: pp 8, 15-25, 37.
- Newman W, Targan SR and Fast LD. 1984. Immunobiological and immunochemical aspects of the T-200 family of glycoproteins. Mol Imm 21:1113-1121.
- Fabre JW and Williams AF. 1977. Quantitative serological analysis of a rabbit anti-rat lymphocyte serum and preliminary biochemical characterisation of the major antigen recognised. Transplantation 23:349-359.
- Coffman RL and Weissman IL. 1981. B220: A B cell-specific member of the T200 glycoprotein family. Nature 289:681-683.
- Dalchau R and Fabre JW. 1980. Identification with a monoclonal antibody of a predominantly B lymphocyte-specific determinant of the human leukocyte common antigen. J Exp Med 153:753-765.
- Omary MB, Trowbridge IS and Battifora HA. 1980. Human homologue of murine T200 glycoprotein. J Exp Med 152:842-852.
- Dalchau R, Kirkley J and Fabre JW. 1981. Monoclonal antibody to a human leukocyte-specific membrane glycoprotein probably homologous to the leukocyte-common (L-C) antigen of the rat. Eur J Immunol 10:737-744.
- Reinherz EL, Meuer SC and Schlossman SF. 1983. The delineation of antigen receptors on human T lymphocytes. Immunol Today 4:5-8.
- Shaw, S. 1994. Leukocyte Differentiation Antigen Database [database]. Version 1.11 [5th International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens. Available from Stephen Shaw, National

- Institutes of Health, on disk; NIH ftp site (balrog.nci.nih.gov), Bethesda, MD]
17. Reinherz EL, Hussey RE, Fitzgerald K, Snow P, Terhorst C and Schlossman SF. 1981. Antibody directed at a surface structure inhibits cytolytic but not suppressor function of human T lymphocytes. *Nature* 294:168-170.
 18. Caligiuri M, Murray C, Buchwald D, Levine H, Cheney P, Peterson D, Komaroff AL and Ritz J. 1987. Phenotypic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. *J Immunol* 139:3306-3313.
 19. Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Aldrich WR and Schlossman SF. 1985. The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset. *J Immunol* 134:1508-1515.
 20. Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Brown HM and Schlossman SF. 1986. The cellular basis for the induction of antigen-specific T8-suppressor cells. *Eur J Immunol* 16:198-204.
 21. Meuer SC, Schlossman SF and Reinherz EL. 1982. Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes: T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:4395-4399.
 22. Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Somoza C, Williams AF eds. 1993. *The Leukocyte Antigen Facts Book*. London: Academic Press, pp. 106-109.
 23. Reinherz EL and Schlossman SF. 1980. The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 19:821-827.
 24. Reinherz EL, Meuer S, Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H and Schlossman SF. 1982. Antigen recognition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. *Cell* 30:735-743.
 25. Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA, Schlossman SF and Reinherz EL. 1983. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. *Nature* 303:808-810.
 26. Benjamin E and Leskowitz S. 1991. *Immunology: A Short Course*. Second Edition. New York: Wiley-Liss, pp. 211-244.
 27. Reinherz EL, O'Brien C, Rosenthal P and Schlossman SF. 1980. The cellular basis for viral-induced immunodeficiency: Analysis by monoclonal antibodies. *J Immunol* 125:1269-1274.
 28. Felsenstein D, Carney WP, Iacoviello VR and Hirsch MS. 1985. Phenotypic properties of atypical lymphocytes in cytomegalovirus-induced mononucleosis. *J Infect Dis* 152:198-203.
 29. Rinaldo CR, Ho M, Hamoudi WH, Gui X and DeBiasio RL. 1983. Lymphocyte subsets and natural killer cell responses during cytomegalovirus mononucleosis. *Infect Immun* 40:472-477.
 30. Goldstein G, Lifter J and Mittler R. Immunoregulatory changes in human disease detected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. B: *Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine*. McMichael AJ and Fabre JW, eds. 1982. New York, NY: Academic Press, pp. 39-70.
 31. Pedrazzini A, Freedman AS, Andersen J, Heflin L, Anderson K, Takvorian T, Canellos GP, Whitman J, Coral F, Ritz J and Nadler LM. 1989. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Phenotypic reconstitution and B-cell function. *Blood* 74:2203-2211.
 32. Preijers FWMB, DeWitte T, Wessels JMC, DeGast GC, Van Leeuwen E, Capel PJA and Haanen C. 1989. Autologous transplantation of bone marrow purged in vitro with anti-CD7-(WT1)- Ricin A Immunotoxin in T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. *Blood* 74:1152-1158.
 33. Ramos EL, Turka LA, Leggat JE, Wood IG, Milford EL and Carpenter CB. 1989. Decrease in phenotypically defined T helper inducer cells (T4+4B4+) and increase in T suppressor effector cells (T8+2H4+) in stable renal allograft recipients. *Transplantation* 47:465-471.
 34. de Martini RM and Parker JW. 1989. Immunologic alterations in human immunodeficiency virus infection: A review. *J Clin Lab Anal* 3:56-70.
 35. Taylor MGJ, Fahey JL, Detels R and Giorgi JV. 1989. CD4 percentage, CD4 number and CD4:CD8 ratio in HIV infection: How to choose and how to use. *J AIDS* 2:114-124.
 36. Reinherz EL, Hussey RE, Fitzgerald K, Snow P, Terhorst C and Schlossman SF. 1981. Antibody directed at a surface structure inhibits cytolytic but not suppressor function of human T lymphocytes. *Nature* 294:168-170.
 37. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, and Berstein ID. eds. 1986. *Leukocyte Typing II, Volume I*. New York, NY: Springer-Verlag, p. 8.
 38. Beverley PCL and Callard RE. 1981. Distinctive functional characteristics of human T lymphocytes defined by E rosetting or a monoclonal anti-T cells antibody. *Eur J Immunol* 11:329-334.
 39. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Edition (H3)*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
 40. Loken MR, Brosnan JM, Bach BA and Ault KA. 1990. Establishing optimal lymphocyte gates for immunophenotyping by flow cytometry. *Cytometry* 11:453-459.
 41. Nicholson JKA, Hubbard M and Jones, BM. 1996. Use of CD45 fluorescence and side scatter characteristics for gating lymphocytes when using the whole blood lysis procedure and flow cytometry. *Cytometry (Communications in Clinical Cytometry)* 26:16-21.
 42. Gebel HM, Lebeck LL, Jensek SC, Landay AL and Bray RA. 1989. Discordant expression of CD3 and T-cell receptor antigens on lymphocytes from patients treated with OKT3. *Transplantation Proceedings* 1:1745-1746.
 43. Tunnacliffe A, Olsson C, Traunecker A, Krissensen GW, Karjalainen K and De Le Hera A. The majority of CD3 epitopes are conferred by the epsilon chain. In *Leukocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens*. Knapp W, Dorken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H and Kr. von dem Borne AEG, eds. 1989. Oxford: Oxford University Press, pp. 295-296.
 44. Schroeder TI and Chatenoud L. Immunological monitoring during treatment with OKT3. Presented under the auspices of the American Society of Transplant Surgeons.
 45. Koepke JA and Landay AL. 1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. *Clin Immunol Immunopathol* 52:19-27.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

CYTO-STAT triCHROME CD45-FITC/CD8-RD1/CD3-PC5
 Ч.№ 6607017 - 50 тестов (0.5 мл)

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Логотип Beckman Coulter, COULTER, COULTER CLONE, CYTO-COMP, CYTO-STAT, CYTO-TROL, EPICS, Flow-Count, IMMUNOPREP, MULTI-Q-PREP, Q-PREP, TQ-Prep, XL, XL-MCL и triCHROME являются товарными знаками Beckman Coulter, Inc.

RD1 продается по патентной лицензии 4.520.110.
 PC5 продается по патентным лицензиям 4.520.110 и 4.542.104.
 Cy5 продается по патентным лицензиям 4.981.977 и 5.268.486.

За дополнительной информацией или при получении поврежденной продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-526-7694 (в США или Канаде) или свяжитесь с вашим местным представителем компании Beckman Coulter.

 Beckman Coulter, Inc.
 250 S. Kraemer Blvd.
 Brea, CA 92821
www.beckmancoulter.com



Beckman Coulter Ireland Inc.
 Mervue Business Park,
 Mervue, Galway,
 Ireland (353 91 774068)

Printed in USA
 Made in USA

© 2010 Beckman Coulter, Inc.
 Все права защищены.