

CASY TTC - Messung von Säugerzellen

Immer frisch gefiltertes CASYton (Dispenser mit aufgesetztem Filter) verwenden!

A. Vorbereitung Messreihe

Test Setup Background-Cap150.SET (*) auswählen und CASYton messen:

→ Messergebnis:

< 100 Counts/ml; weiter mit „B.“

> 100 Counts/ml:

1x Clean [F6] mit CASYton

Messung mit frischem CASYton wiederholen bis Counts/ml <100 - kein weiteres Clean

B. Durchführung Messreihe

1. Zellspezifisches Setup aktivieren

2. 10ml CASYton vorlegen und Probe zugeben, typisch 10 - 200µl (**)

3. Mischen, CASYcup mit Deckel 3x langsam kippen, nicht schütteln!

4. Messung durchführen [F5]; gemessene Counts:

> 1 000 weiter mit „B.5“ oder mit „C.“ (statistisch ideal sind 2 000 bis 10 000 Counts)

< 1 000 oder Meldung [**Concentration too high**]: Verdünnung anpassen und im Setup-Fenster mit [Save Current Settings...] speichern, Messung wiederholen

5. weitere Probe:

- Zelltyp gleich & Konzentration (+/-50%): Probe auf Probe messen, kein Clean

- anderer Zelltyp oder Konzentration > 50% abweichend: CASYcup mit CASYton kurz unterstellen und weitermessen, kein Clean

C. Ende Messreihe

1. 1x Clean [F6] mit CASYton

2. CASYcup mit frischem CASYton unter die Messkapillare stellen

D. Fehlermeldung [Timeout] und [Large Air Bubble detected]

1. [Timeout] sowie Luftblase nicht sichtbar oder steigt schnell: Messung wiederholen

2. Stehende Luftblase oder wiederholte Fehlermeldung: Messung abbrechen, CASYcup mit CASYton unterstellen und 1x Clean [F6]

3. Messung der Probe wiederholen

E. Wöchentliche Reinigung

Die im Handbuch aufgeführten 3fach-Messungen können entfallen

1. Messreihe wie unter „C.“ beschrieben abschließen

2. Je ein CASYcup mit 10ml Reinstwasser unter Messkapillare und CASYton-Ansaugschlauch stellen; [Measure -> Clean 3x]

3. Schritt 2 mit CASYclean wiederholen; mindestens 3 Stunden einwirken lassen oder über Nacht

4. Schritt 2 mit Reinstwasser (2x) und anschließend mit CASYton (1x) wiederholen

5. Vorratsbehälter mit CASYton wieder unterstellen und wie unter „A.“ beschrieben fortfahren

(*) Einstellungen Test Setup

- X-Achse 0 bis 50µm
- Auswertecursor 0 bis 50µm
- Messvolumen 1x 400µl
- Verdünnungsfaktor 1 (eins)
- Alle Berechnungen ausgeschaltet

(**)Typische Verdünnungsfaktoren

- | | |
|---|------|
| 1x 10E5 bis 5x 10E5 cells/ml: 10ml CASYton + 200µl Probe, Verdünnungsfaktor | 51 |
| 2x 10E5 bis 1x 10E6 cells/ml: 10ml CASYton + 100µl Probe, Verdünnungsfaktor | 101 |
| 4x 10E5 bis 2x 10E6 cells/ml: 10ml CASYton + 50µl Probe, Verdünnungsfaktor | 201 |
| 1x 10E6 bis 5x 10E6 cells/ml: 10ml CASYton + 20µl Probe, Verdünnungsfaktor | 501 |
| 2x 10E6 bis 1x 10E7 cells/ml: 10ml CASYton + 10µl Probe, Verdünnungsfaktor | 1001 |

F. Anlegen eines zellspezifischen Setups

1. Vorhandenes Setup kopieren

Wenn möglich vergleichbares Setup aktivieren; empfohlene Basisparameter: 3x 400µl, X-Axis 50µm, Percent Calculation [% Viability]. Setup mit [Clone...] unter neuem Namen speichern.

Änderungen in den entsprechenden Menüs durchführen und mit [Save Current Settings...] speichern.

2. Vitalitätsdifferenzierung einstellen

Ausgangsmaterial: Eine vitale Probe des einzurichtenden Zelltyps (> 90% Vitalität). Zelllinien sollten sich in exponentieller Wachstumsphase befinden.

- i. Vitalprobe entsprechend „B.“ messen; Verdünnung für > 4000 Counts einstellen (**)
- ii. Totprobe herstellen: Identisches Probenvolumen (i) mit mindestens 4-fachem Überschuss an CASYblue versetzen (10 - 100µl Probe + 400µl CASYblue), 2min inkubieren (RT) dann 10ml CASYton zugeben
- iii. Vitalprobe mit 3-4 ml der Totprobe versetzen (ca. 7:3), Mischung messen (siehe „B.“)
- iv. Doppelklick auf die Größenverteilung zum Öffnen des Fensters [Cursor Control]
- v. Linken Evaluierungscursor mit Pfeiltasten ins Tal zwischen Tot- und Vitalpeak bewegen
- vi. Linken Normierungscursor mit Pfeiltasten ins Tal zwischen Debris- und Totpeak bewegen
- vii. Setup-Fenster öffnen, [Save Current Settings...]

3. X-Achsenkalibrierung

Skala so wählen, dass sie dem 3-4fachen der Position des Vitalpeaks [Peak Diameter] entspricht.

4. Aggregationskorrektur (optional)

Suspensionszellen oder Mischpopulationen unterschiedlich großer Zellen -> nicht aktiviert

Trypsinierte Zellen -> aktiviert:

- Vitalität >80% und Counts >2000 → [Automatic] oder [User Defined Peak Volume]
- Vitalität <80% oder Counts <2000 → [User Defined Peak Volume]

Einstellung:

[User Defined Peak Volume]: Aggregationsberechnung mit vom User vorgegebenem Peakvolumen, Mittelwert des Peakvolumens der vitalen Zellen von wenigstens 5 Testproben mit Vitalität >90% und Counts >2000 ins Setup eintragen.

[Automatic]: Aggregationsberechnung mit dem Peakvolumen der aktuellen Probe.

G. Außerbetriebnahme bei Nichtbenutzung > 2 Wochen

1. Reinigung wie in „E.“ bis Schritt 3 durchführen
2. Je ein CASYcup mit 10ml Reinstwasser unter Messkapillare und CASYton-Ansaugschlauch stellen; [Measure -> Clean 3x]
3. Schritt 2 wiederholen
4. CASYton-Behälter durch leeres CASYcup ersetzen; leeres CASYcup unter Messkapillare stellen
5. [Dry Liquid System] im Menü [Service] 2x starten
6. Waste- und CASYton-Behälter reinigen, trocknen und unterstellen
7. Außenelektrode entfernen und in die zugehörige Schutzverpackung legen, Kapillarschutz anbringen
8. Zur Wiederinbetriebnahme Reinigung wie unter „E.“ beschrieben ab Schritt 2 durchführen

Alles über das CASY - Troubleshooting, FAQs, Videos, Manuals und Software zum CASY: www.zellzählung.de

Bestellung von Verbrauchsmaterialien, Service und Support: www.ols-bio.de/casy

Sie benötigen direkten Support oder haben eine Frage? Wenden Sie sich schnell und unkompliziert an uns:

Email: info@ols-bio.de | Telefon: 0421-276-1690