

Микроперфузионная система CellASIC™ ONIX

Контролируйте условия культивирования
Постройте свой эксперимент "в
динамике" с платформой CellASIC™.



За пределами стационарной клеточной культуры

Условия биологических экспериментов – это не только DMEM/FBS, 37 °C, 5% CO₂. Моделируйте Ваш собственный креативный дизайн и достигайте настоящих условий культивирования с новой платформой CellASIC™ ONIX.

Благодаря точности потока в CellASIC™ ONIX Вы можете расширить границы Ваших экспериментов и создать условия, приближенные к *in vivo*. Новая перфузионная система позволит Вам программировать автоматизированные изменения условий культивирования. Используя микроскоп с замедленной съемкой, Вы сможете постоянно отслеживать индивидуальные клеточные ответы для проведения клеточного анализа "в динамике".

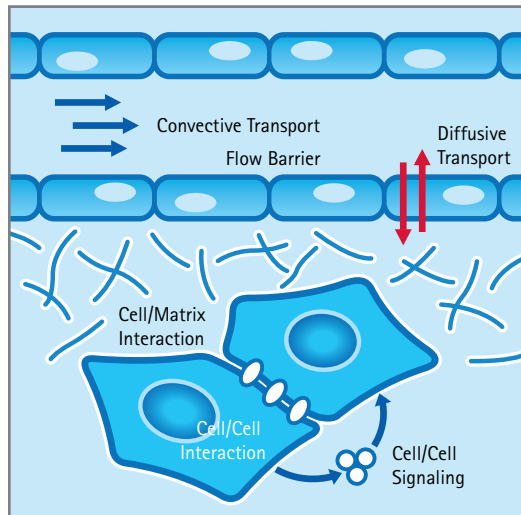
Сравним с традиционным культивированием и анализом?

Микроперфузия имитирует микроокружение клеток *in vivo*.

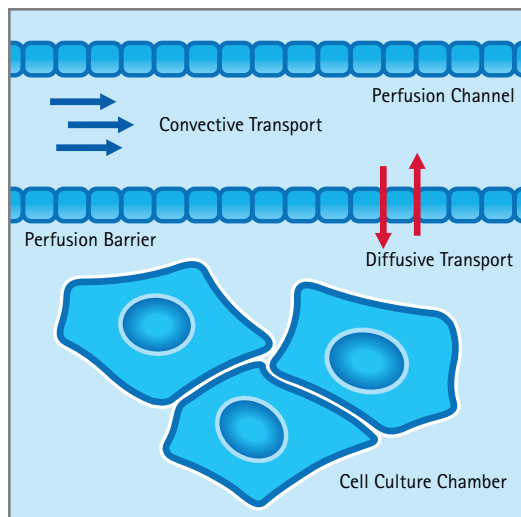
Анализ живых клеток *in vitro* крайне важен для понимания основ биологии, сигнальных путей, влияния препаратов и механизмов болезней. Но, несмотря на значительный прорыв в методах детекции, технология контроля микроокружения живых клеток в процессе эксперимента еще практически на уровне "чашечного" метода культивирования.

Значение клеточного микроокружения, или "ниши" также важно для формирования фенотипа клеток, как и генетический фактор. Поэтому метод, обеспечивающий более точный контроль живых клеток "в динамике" эксперимента может способствовать грандиозному прорыву в развитии клеточной биологии.

Теперь, благодаря специально разработанной Микроперфузионной платформе CellASIC™ ONIX, возможен контроль за клеточным микроокружением "в динамике".



In vivo



Микроперфузия

Точно так же как питательные вещества и газы проходят сквозь кровеносные сосуды, компоненты культуральной среды и газы транспортируются через перфузионные каналы системы CellASIC™ ONIX. Перфузионный барьер, отделяющий клеточную культуру от канала (рисунок снизу), имитирует эндотелиальный слой, отделяющий *in vivo* ткани от крови (рисунок сверху).

CellASIC™ ONIX Микроперфузионная Система

Благодаря интеграции системы с Вашим микроскопом и усовершенствованному контролю с функцией изображения живых клеток, становится возможным проведение продолжительных экспериментов "в динамике". Передовая микроперфузионная технология позволяет создавать улучшенные условия культивирования с точным

контролем состава среды и получать изображения исключительного качества, так важного в микроскопии. Встроенный Микроинкубатор-Контроллер поддерживает точное значение температуры и газа прямо в микроперфузионном планшете в течение длительного времени культивирования или на стадии микроскопического анализа.



Система совмещается с Вашим микроскопом, предоставляя готовое решение для получения данных высокого качества.

"...Теперь мы можем легко и быстро выполнять инновационные и технологически сложные эксперименты, не имея опыта работы с перфузионными системами. Во время работы CellASIC™ можно сосредоточиться на функциональных биологических вопросах".

Maheshri Lab, MIT

Возможности платформы

Контроль микроокружения живых клеток "в динамике"

Микроперфузионная система CellASIC™ ONIX автоматизирует создание всех необходимых условий – изменения скорости потока, температуры, концентрации газа – для наблюдения за живыми клетками, предоставляя Вам возможность для совершения новых открытий.



Преимущества микроперфузионного планшета для культивирования клеток

Возможность выполнения 4-х независимых экспериментов одновременно

Совместимость с любым стандартным инвертированным микроскопом

Изображение с высоким разрешением благодаря тонкому стеклянному дну

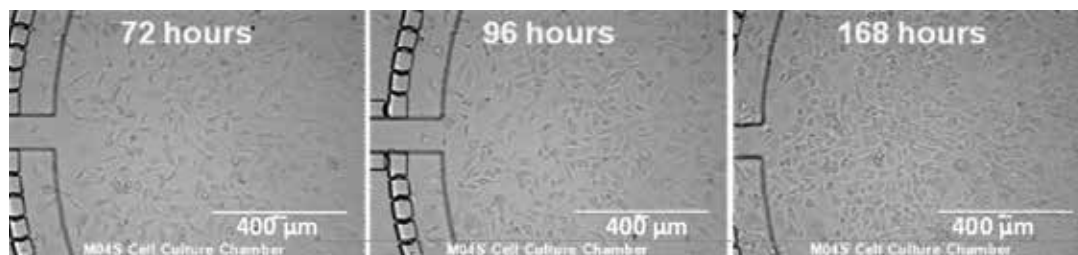
Контроль потока, температуры и газа "в динамике"

Ламинарный поток для быстрой смены растворов и поддержания стабильного градиента

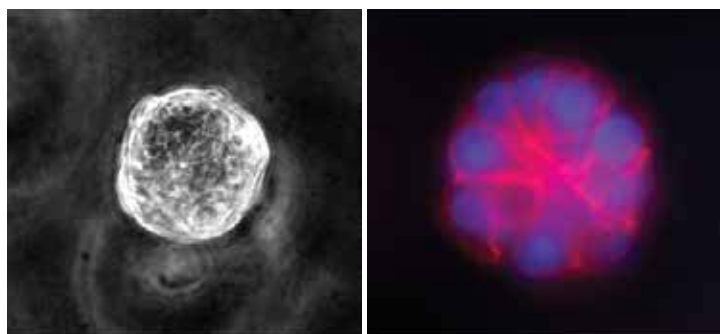
Благодаря перфузионному барьеру постоянный транспорт веществ осуществляется без механического раздражения

Высокотехнологичное культивирование

Микроперфузионные планшеты CellASIC™ ONIX специально разработаны для поддержания жизнеспособности клеток в процессе эксперимента, что особенно важно для анализа, требующего длительного культивирования. Специализированные форматы планшетов позволяют работать с различными культурами, учитывая особенности клеток.



Продолжительное культивирование вне инкубатора. Клетки NIH 3T3: культивирование в системе CellASIC™ ONIX (M04S планшет) в условиях непрерывной перфузии и наблюдение с помощью светолопальной микроскопии в течение 168 часов.



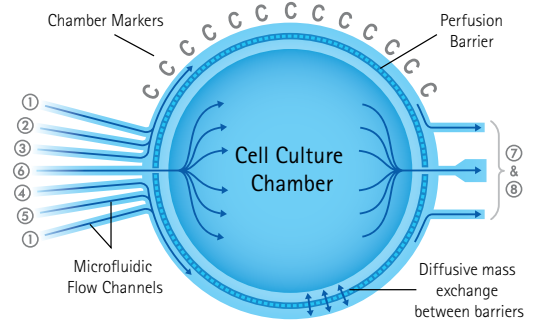
Надежное культивирование с трехмерным изображением. Эпителиальные клетки молочной железы MCF10A, суспендированные в Matrigel®-субстрате и культивированные в условиях непрерывной перфузии в течение пяти дней в системе CellASIC™ ONIX (M04L планшеты). В клетках окрашен актин (красный) и ядра (синий). Изображения в светолопальном и флуоресцентном микроскопе были получены при 40-кратном увеличении.

Автоматическая интеграция практически в любой протокол

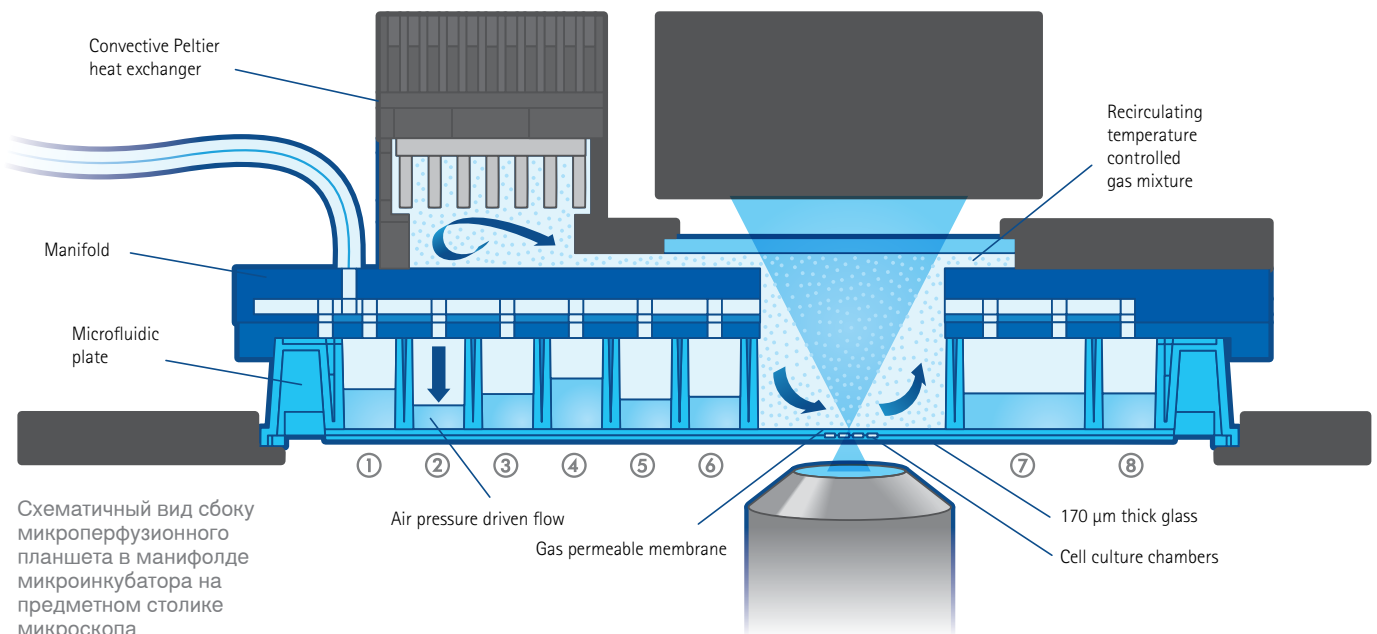
Вы – в минуте от получения данных с микроперфузионными планшетами CellASIC™ ONIX и опцией выполнения протокола после загрузки. Интуитивное программное обеспечение CellASIC™ ONIX FG автоматизирует полностью настраиваемый пользователем протокол, предоставляя Вам больше времени для исследования безграничных возможностей, предлагаемых единственной платформой.

Несколько простых шагов

- 1** Приготовьте микроперфузионный планшет: удалите PBS из канала для входа клеток №6 и добавьте 10 мкл Вашей клеточной суспензии. Клетки распределятся самопроизвольно по капиллярному принципу.
- 2** Добавляйте реагенты и среду, используемые в Вашем перфузионном протоколе, через четыре входных канала для растворов (каналы 2-5).
- 3** Для герметизации поместите планшет в манифолд и поверните вакуумный переключатель на платформе CellASIC™ ONIX. Планшет герметично закрыт, когда надпись "герметично" подсвечена зеленым.
- 4** Поместите планшет на предметный столик инвертированного микроскопа и сфокусируйтесь в центре зоны изображения.



- 1** Вход для самотечной непрерывной перфузии
- 2-5** Независимые входы для потока под давлением
- 6** Вход для размещения клеток
- 7-8** Выходы в лунку для отходов



Схематичный вид сбоку микроперфузионного планшета в манифолде микроинкубатора на предметном столике микроскопа.

5

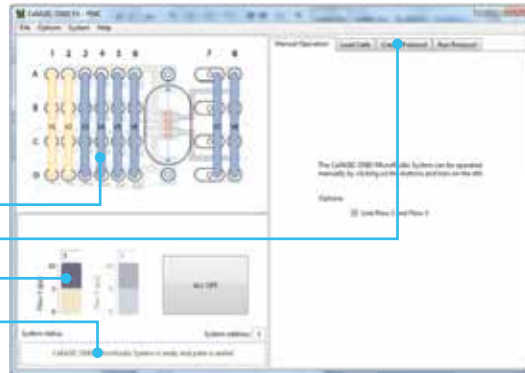
Благодаря интуитивно-понятному интерфейсу ПО CellASIC™ ONIX FG Вы можете программировать и наблюдать за Вашим экспериментом, пользуясь одним экраном для просмотра.

Три закладки – три легких функции программирования

Ручное управление

С помощью мыши контролируйте условия перфузии, значение температуры в реальном времени

- Кнопки открывания/закрывания клапана
- Закладки функций
- Настройки регулирования
- Строка текущего состояния

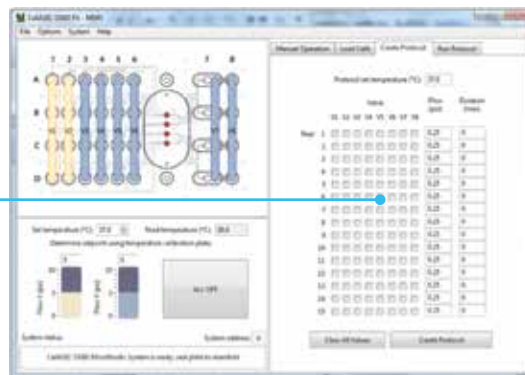


Создайте протокол

Простой мастер настройки Wizard поможет Вам установить автоматизированный протокол для предварительно запрограммированных изменений условий перфузии в течение минут, часов или дней.

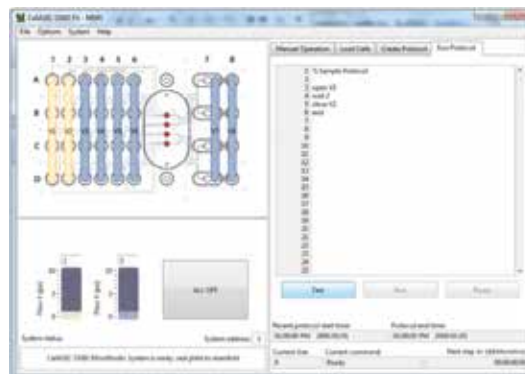
Протокол Wizard:

Нажмите "valve" и введите время и скорость потока для каждого шага. Вы можете внести 5 или 15 шагов – все зависит от Вашего эксперимента.



Запустите протокол

Пользуясь этой вкладкой, Вы можете сохранять, изменять и добавлять шаги в Ваш протокол.



6

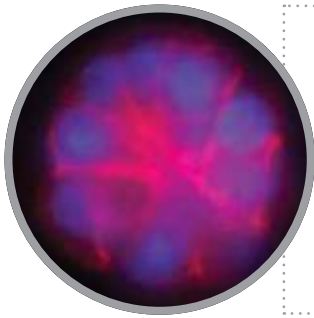
Нажмите "Run" для запуска программы. Получайте изображение живых клеток с использованием стандартных методов микроскопии.

Поскольку я занимаюсь количественным анализом морфологии митохондрий, мне необходима постоянная надежная визуализация клеток для поддержания необходимых условий. Система CellASIC™ ONIX справляется с этим превосходно.

Marshall Lab, UCSF

Наиболее используемые приложения системы CellASIC™ ONIX

Благодаря платформе CellASIC™ ONIX Вы можете проводить клеточные эксперименты "в динамике", которые раньше казались невыполнимыми. Это подтверждено учеными нашего RND-центра и нашими пользователями. Перечисленные ниже применения – лишь немногие из интереснейших опытов, которые Вы можете осуществить с исключительной точностью.



Микроскопическое исследование клеточной культуры в формате 3D

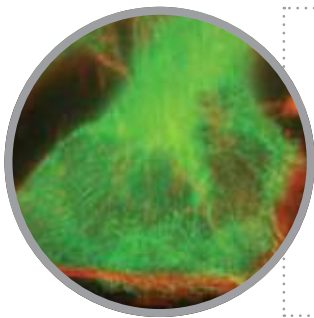
Наблюдение морфологических изменений в опухолевых сфероидах, выращенных во внеклеточном матриксе в течение нескольких дней (3D). MCF-10A клетки РМЖ были суспендированы в Matrigel®-субстрате и выращены в микроперфузионной системе CellASIC™ ONIX. В клетках окрашен актин (красный) и ядра (синие). Изображение получено при 40-кратном увеличении.



Влияние хемоградиента на хемотаксис/миграцию

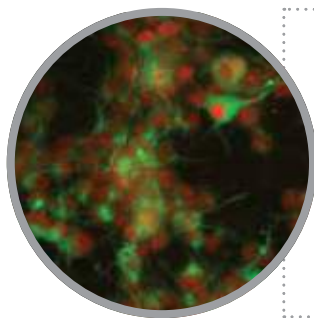
Хемокин-индуцированная миграция HL-60 нейтрофилов. Изображение демонстрирует концентрирование клеток в направлении хемокина.

Courtesy of Jason Park, Wendell Lim Lab, UCSF.



Клеточный ответ на изменение условий культивирования

Микроскопия живой клетки: Наблюдение изменений цитоскелета в клетках HeLa с точным контролем микроокружения. Тубулин (зеленый) и актин (красный), окрашенные мульти-раствором с использованием технологии иммуноокрашивания "on-chip", автоматически отмытые и обработанные с помощью программы. Изображение получено при 100-кратном увеличении.

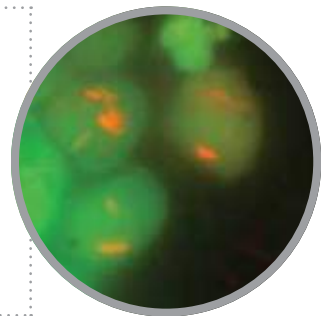


Изображение нервных стволовых клеток

Окрашенные нестин (зеленый) и Sox2 (красный) в нервных стволовых клетках крысы (EMD Millipore), культивированных в течение 8 дней в микроперфузионном планшете M04S.

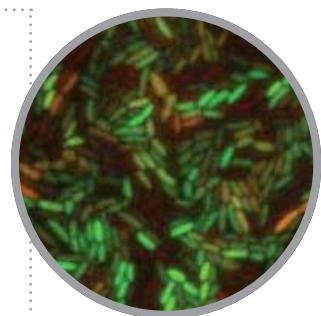
Взаимодействие "Хозяин-патоген"

HT-29 Колоректальные клетки хозяина, инфицированные генно-инженерным штаммом *E. coli* (красные) в микроперфузионном планшете M04S (100X).



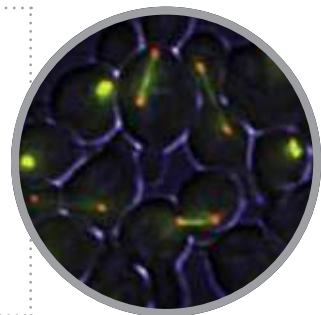
Реакция единичной бактериальной клетки

Изучение реакции нескольких поколений живых бактериальных клеток: наблюдение в одном фокусе в течение нескольких дней. В продолжительном эксперименте наблюдалось влияние индуцирующих факторов на геном *E. coli*. Изображения получены при 100-кратном увеличении.



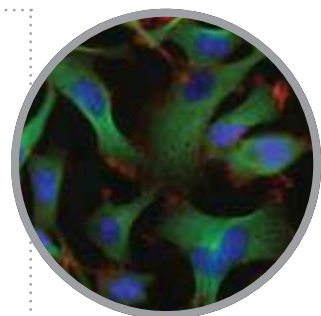
Реакция единичной дрожжевой клетки

Клетки *S. Cerevisiae*, экспрессирующие GFP-тубулин и SPC42 mCherry во время воздействия альфа-фактора и в отсутствие. Изображения получены при 60-кратном увеличении. Courtesy of Soni Lacefield, University of Indiana.



Локализация и перемещение протеинов

Расположение актина (зеленый) и микротрубочек (красный) вокруг ядер (синие) в клетках фибросаркомы человека линии HT1080, иммунофлуоресцентно окрашенных в микроперфузионном планшете M04S. Изображение получено при 40-кратном увеличении.



Другие популярные применения

- Изучение зависимости доза препарата/ эффект во времени
- Имитация условий гипоксии микроокружения опухоли
- Влияние индуктивных факторов на изменение клеточного цикла

Основные публикации CellASIC™ ONIX

Wei P., Wong W., Park J., Corcoran E., Peisajovich S., Onuffer J., Weiss A., Lim W. Bacterial virulence proteins as tools to rewire kinase pathways in yeast and immune cells. *Nature*, 2012 Aug 16; 488(7411):384-8.

Bermejo C, Haerizadeh F, Takanaga H, Chermak D, Frommer W. Optical sensors for measuring dynamic changes of cytosolic metabolite levels in yeast. *Nature Protocols*. 2011 Oct 27 6;1806-1817.



Doncic A, Falleur-Fettig M, Skotheim J. Distinct interactions select and maintain a specific cell fate. *Molecular Cell*. 2011 Aug 19 4;43:528-539.

Eser U, Falleur-Fettig M, Johnson A, Skotheim J. Commitment to a cellular transition precedes genome-wide transcriptional change. *Molecular Cell*. 2011 Aug 19 4;43:515-527.

Tamura N, Oku M, Sakai Y. Atg8 regulates vacuolar membrane dynamics in a lipidation-independent manner in *Pichia pastoris*. *J Cell Sci*. 2010 Dec 1;123(Pt 23):4107-16.

Bermejo C, Haerizadeh F, Takanaga H, Chermak D, Frommer WB. Dynamic analysis of cytosolic glucose and ATP levels in yeast with optical sensors. *Biochem J*. 2010 Sep 20.

Dechant R, Binda M, Lee SS, Pelet S, Winderickx J, Peter M. Cytosolic pH is a second messenger for glucose and regulates the PKA pathway through V-ATPase. *EMBO J*. 2010 Aug 4;29(15):2515-26.

Manzoni R, Montani F, Visintin C, Caudron F, Ciliberto A, Visintin R. Oscillations in Cdc14 release and sequestration reveal a circuit underlying mitotic exit. *J Cell Biol*. 2010 Jul 26: 209-22.

Furuya K, Niki H. The DNA damage checkpoint regulates a transition between yeast and hyphal growth in *Schizosaccharomyces japonicus*. *Mol Cell Biol*. 2010 Jun;30(12):2909-17.

Octavio LM, Gedeon K, Maheshri N. Epigenetic and conventional regulation is distributed among activators of FLO11 allowing tuning of population-level heterogeneity in its expression. *PLoS Genet*. 2009 Oct;5(10):e1000673.

Thorn K. Spinning-disc confocal microscopy of yeast. *Methods of Enzymology*, vol 470, 2010, 581-602.

Lee PJ, Gaige TA, Hung PJ. Dynamic cell culture: a microfluidic function generator for live cell microscopy. *Lab Chip*. 2009 Jan 7;9(1): 164-6.

Технические характеристики

Микроперфузионная платформа CellASIC™ ONIX (EV262 Микроперфузионная система и MIC230 Микроинкубатор-контроллер)	
Совместимость с микроскопом	Инвертированный микроскоп
Техники микроскопических исследований	Флюоресцентная, светлопольная, фазово-контрастная, конфокальная, TIRF (с функцией флюоресценции полного внутреннего отражения), DIC (с функцией дифференциально-интерференционного контраста) микроскопия
Субстрат изображения	1,5 стеклянное покровное стекло
Формат микроперфузионного планшета	96-луночный планшет
Количество камер	4 микроперфузионных камеры для культивирования клеток (в параллели)
Время культивирования в микроперфузионной платформе CellASIC™ ONIX	1-3 дня непрерывного культивирования (24 - 72 часа)
Объем клеточной суспензии	5-10 мкл (M04 Перфузионный планшет CellASIC™ ONIX), 50 мкл (B04/Y04/C04 Перфузионный планшет CellASIC™ ONIX)
количество входных каналов, работающих под давлением	8
Диапазон рабочего давления	0-10±0.25 psi (0-70±1.7 kPa)
Оптическая прозрачность	Оптически прозрачный манифолд и микроперфузионные планшеты
Входной канал для смешанного газа	Предназначен для работы с чистой, сухой готовой смесью газов, содержащей воздух, CO2, азот и кислород до 25%, регулируемый в диапазоне 45-55 psi (310-379 kPa).
Диапазон температурного контроля	От комнатной температуры до 40 °C
Время повышения температуры (с 25 °C до 37 °C)	<10 минут
Время снижения температуры (с 37 °C до 25 °C)	<15 минут
Потребление газа	3 mL/min, ±0.5 mL/min
Габариты	310 мм ширина x 257 мм глубина x 163 мм высота

Типы клеток, исследуемых в системе CellASIC™ ONIX

Адгезивные клетки	HeLa, CHO-клетки, NIH-3T3, MCF-7, MCF-10A, PC-3, HUVEC, PC-12, HL-60, HT-29, Нейроны (гиппокампальные/ кортикальные), Кардиомиоциты
Неадгезивные клетки	Макрофаги, Лимфоциты, Т-клетки, Бактерии (E. coli, B. subtilis, Cyanobacteria, M. smegmatis), Дрожжи (S. cerevisiae, S. pombe), Хламидии
Используемые ECM-субстраты для покрытия	Фибронектин, Коллаген, Matrigel® субстрат, Поли-D-лизин, Ламинин, Гидрогели

Информация для заказа

Описание	Каталожный номер
Микроперфузионная система CellASIC™ ONIX , включающая Контроллер микроперфузии CellASIC™ ONIX, Манифолд, Набор принадлежностей и программное обеспечение CellASIC™ ONIX FG	EV262
Микроинкубатор CellASIC™ ONIX для контроля температуры и газа, включающий Микроинкубатор-Контроллер CellASIC™ ONIX, Микроинкубатор-Манифолд и Набор принадлежностей	MIC230
CellASIC™ ONIX Три-газ-миксер: миксер сжатого воздуха, CO2, и азота	GM230
B04A Микроперфузионный планшет для бактериальных клеток (4 камеры)	B04A-02-5PK
C04A Микроперфузионный планшет для клеток Chlamydomonas (4 камеры)	C04A-01-5PK
M04G Микроперфузионный градиентный планшет для клеток млекопитающих (4 камеры)	M04G-02-5PK
M04L Микроперфузионный планшет для клеток млекопитающих, открытый (4 камеры)	M04L-03-5PK
M04S Микроперфузионный планшет для клеток млекопитающих, с функцией переключения (4 камеры)	M04S-03-5PK
Y04C Микроперфузионный планшет для клеток гаплоидных дрожжей (4 камеры)	Y04C-02-5PK
Y04D Микроперфузионный планшет для клеток диплоидных дрожжей (4 камеры)	Y04D-02-5PK

Сопутствующая продукция

Достигайте большего с Вашей микроперфузионной платформой CellASIC™ ONIX, используя устройства для культивирования, антитела, реагенты и наборы для клеточного анализа EMD Millipore, а также реагенты, оптимизированные для визуализации живых клеток.

Культивирование клеток

Положитесь на EMD Millipore в выборе устройств и поверхностей для культивирования клеток с заданной структурой и свойствами в условиях, максимально приближенных к *in vivo*.

Узнайте больше на сайте:

Стерилизующая фильтрация

Признанная линия инструментов EMD Millipore для стерилизующей фильтрации специально разработана для удаления контаминации и гарантии воспроизводимости Вашего анализа.

Чтобы ознакомиться с полным перечнем наших продуктов для стерилизующей фильтрации, включая фильтрационные устройства Stericup®, Steriflip® и шприцевые насадки Millex®, посетите

Антитела

Основываясь на опыте Chemicon® и Upstate®, EMD Millipore продолжает производить антитела, отвечающие самым высоким требованиям качества. Большое количество наших антител конъюгировано с флуорофорами и валидировано для иммуноцитохимии.

Больше об антителах EMD Millipore:

Факторы роста

EMD Millipore производит широкий ряд цитокинов человека, мыши и крысы, а также ростовые факторы для культивирования и клеточного анализа. Каждый произведенный лот тщательно тестируется на биоактивность, чистоту и апиrogenность.

Для получения полной информации посетите www.millipore.com/growthfactors

Небольшие молекулы: Ингибиторы, Активаторы. Библиотеки и Панели Сигнальных Путей

Запуск сигнальных механизмов небольшими молекулами с анализом их влияния посредством визуализации живой клетки в реальном времени может повлечь за собой грандиозные биологические открытия. Среди панелей для исследования сигнальных путей, библиотек и индивидуальных реагентов Calbiochem® EMD Millipore Вы найдете необходимый Вам ингибитор и активатор.

Узнайте больше на www.millipore.com/calbiochem

Биосенсоры LentiBrite™

Новые лентивирусные биосенсоры LentiBrite™ представляют собой лентивирусные частицы, кодирующие основные важные белки аутофагии, апоптоза и клеточной структуры, с возможностью визуализации при различных состояниях клетки/ стадиях болезни и в *in vitro* анализе.

Узнайте больше о семействе лентивирусных биосенсоров LentiBrite™ на www.millipore.com/cellstructure.

Для размещения заказа и получения консультации

пожалуйста, обращайтесь в Московское представительство Merck

Millipore: 117191 г. Москва, Ленинский пр. 113/1, оф. Е-718

Тел./факс: (495) 931-91-91

Germany: 01805 045 645

Italy: 848 845 645

Spain: 901 516 645 Option 1

Switzerland: 0848 645 645

United Kingdom: 0870 900 4645

For other countries across Europe, please call: +44 (0) 115 943 0840

или посетите наш сайт: www.merckmillipore.com/offices

Для получения технической поддержки:

www.merckmillipore.com/techservice или по телефону 8(495)931-91-91



www.merckmillipore.com