



zusoess1483ae5

Příloha č. 2 zadávací dokumentace

Kupní smlouva

uzavřená na základě ustanovení § 2079 zákona č. 89/2012 Sb., občanský zákoník,
v platném znění (dále jen „smlouva“)

Kupující: **Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě**
Sídlem: Partyzánské náměstí 2633/7, Moravská Ostrava, 702 00 Ostrava
Zastoupen: Ing. Eduardem Ježem, ředitelem
IČ: 71009396
DIČ: CZ 71009396
Státní příspěvková organizace, nezapsaná ve veřejném rejstříku
ID datové schránky: pubj9r8
Bankovní spojení: ČNB
č. ú.: 3235761/0710

(dále jen jako „kupující“)

A

Prodávající: **EXBIO Praha, a.s.**
Sídlem/místem podnikání: Vestec u Prahy, nad Safinou II, 341
Zastoupen: Vladimírem Viklickým a Stanislavem Lancouchem
IČ: 25548611
DIČ: CZ699003063
zapsaná v obchodním rejstříku vedeném Městským soudem v Praze oddíl B, vložka 5889.
ID datové schránky: n5cdz7d
Bankovní spojení: **Fio banka, a.s**
č. ú.: 0023 0019 4731/2010

(dále jen jako „prodávající“)

uzavírají níže uvedeného dne tuto kupní smlouvu v souladu se zadávací dokumentací kupujícího ze dne 16. 2. 2021, a to na základě výsledku řízení na veřejnou zakázku na dodávky s názvem „**Stanovení lymfocytární proliferace II.**“, zadanou v rámci DNS pod názvem: Dynamický nákupní systém na dodávky diagnostik (ev. č. ve VVZ: Z2020-009105) a podle zákona č. 134/2016 Sb. o zadávání veřejných zakázek v platném znění, a nabídkou prodávajícího ze dne 16. 2. 2021.

Článek I. Předmět a účel smlouvy

1. Předmětem této smlouvy jsou dodávky laboratorních diagnostických souprav ED7642 umožňující stanovení lymfocytární proliferace (dále jen „zboží“). Jednotlivé dílčí objednávky budou uzavírány a realizovány po dobu platnosti této smlouvy.
2. Jednotlivá plnění v rámci této smlouvy budou realizována formou dílčích objednávek ze strany kupujícího (dále jen „objedávka“).
3. V rámci jednotlivých objednávek bude prodávající dodávat kupujícímu podle jeho konkrétních potřeb zboží specifikované dle Přílohy č. 1 této smlouvy.

4. Kupující negarantuje prodávajícímu odběr předpokládaného množství v celém rozsahu uvedeného v zadávací dokumentaci.
5. Za řádně uskutečněné dodávky se kupující zavazuje zaplatit prodávajícímu řádně a včas dohodnutou úplatu (čl. V. této smlouvy).
6. Proávající se zavazuje dodávat kupujícímu nové, nepoškozené, nepoužité zboží.
7. Proávající se zavazuje, že bude pro kupujícího dodávat zboží v objednaném množství a jakosti.
8. Proávající se zavazuje kdykoliv po dobu platnosti této smlouvy, na základě žádosti kupujícího ke zboží předložit bezpečnostních listy a příbalové letáky v českém jazyce dle zákona č. 268/2014 Sb., v platném znění, a to buď v tištěné, nebo elektronické podobě.
9. Dodání předmětu plnění zahrnuje úplnou dodávku požadovaného zboží včetně příbalové informace ke zboží, dopravy na místo plnění, balného, pojistného za pojištění zboží během dopravy, celních a daňových poplatků.
10. Proávající je povinen při plnění smlouvy postupovat s nejvyšší možnou odbornou péčí v zájmu kupujícího.

Článek II. Objednávky v rámci smlouvy

1. Objednávka musí obsahovat minimálně označení smluvních stran, určení druhu a množství zboží a místo dodání zboží. Objednávka může obsahovat též určení doby dodání zboží. Není-li lhůta dodání určena objednávkou, sjednává se max. do 14 pracovních dnů od doručení objednávky prodávajícímu.
2. Objednávka kupujícího vyžaduje písemnou formu. Přijetí (potvrzení) objednávky prodávajícím vyžaduje taktéž písemnou formu. Písemnou formou se podle této smlouvy rozumí objednávka či její potvrzení zasláné poštou, faxem, elektronicky datovou zprávou nebo e-mailem.
3. Proávající se zavazuje potvrdit přijetí objednávky do 2 pracovních dnů od jejího doručení. Pro případ, že prodávající nebude mít dočasně na skladě kupujícím požadované zboží, dohodly se smluvní strany, že prodávající ihned (ve lhůtě do 2 pracovních dnů) písemně vyrozumí kupujícího, kterého současně upozorní na možné prodloužení s dodáním objednaného zboží (nejvýše však o 2 kalendářní týdny), přičemž prodávající kupujícímu rovněž nabídne obdobné plnění, jež je v případě písemné akceptace kupujícím schopen dodat řádně a včas.
4. Smluvní strany se dohodly, že jednotlivé dodávky zboží budou realizovány na základě konkrétních požadavků kupujícího, resp. osoby oprávněné vystavit objednávku za kupujícího, a to na dodací místa dle ust. Čl. VI. této smlouvy.
5. V případě, že prodávající nebude schopen dodávat zboží v dohodnutém množství a termínech z důvodu zásahu vyšší moci nebo všeobecných zásobovacích potíží, je prodávající povinen informovat kupujícího o uvedených skutečnostech a bude v takovém případě hledat jiné řešení dodávek zboží.
6. Všeobecnou zásobovací potíží není předem nahlášený výpadek některého zboží.

V tomto případě prodávající neprodleně informuje osobu pověřenou kupujícím o této skutečnosti a po vzájemné dohodě se pokusí zajistit odpovídající množství uvedeného zboží nebo zboží zastupitelného.

Článek III. Doba trvání smlouvy

1. Tato smlouva se uzavírá na dobu určitou, a to na **24** měsíců nebo do vyčerpání celkové ceny předmětu plnění uvedené v Čl. V. odst. 1. této smlouvy, podle toho, co nastane dříve.
2. Tato smlouva nabývá platnosti a účinnosti dnem jejího podpisu oběma smluvními stranami, nejdříve však okamžikem jejího uveřejnění v registru smluv podle zákona č. 340/2015 Sb., v platném znění.

Článek IV. Jakost a provedení zboží

1. Dodávané zboží musí být v bezvadném stavu a jakosti, odpovídat specifikaci dle Přílohy č. 1 této smlouvy a právním předpisům, které se na zboží vztahují.
2. Kupující je oprávněn odmítnout zboží, které není v bezvadném stavu a neodpovídá specifikaci dle Přílohy č. 1 této smlouvy nebo konkrétní objednávce.
3. Prodávající se zavazuje předat kupujícímu doklady ke zboží, které se ke zboží vztahují ve smyslu § 2087 občanského zákoníku v českém jazyce (přínejmenším kupujícím potvrzený dodací list, specifikující dodanou položku zboží, její množství a cenu).
4. Součástí balení zboží je příbalová informace v českém jazyce, vyznačená doba použitelnosti, číslo šarže zboží.
5. Doba použitelnosti zboží (expirace) při jeho převzetí je min. 6 měsíců.
6. Prodávající se zavazuje balit dodané zboží obvyklým způsobem vylučujícím jeho jakékoliv poškození či jeho znehodnocení, zachovat skladovací a transportní podmínky až do převzetí dodávky v místě plnění. Kupující se dále zavazuje uchovávat dodané zboží způsobem, který jejich výrobce stanoví pro jejich úschovu a skladování.
7. Prodávající poskytuje kupujícímu na zboží záruku za jakost ve smyslu § 2113 a násl. občanského zákoníku.

Článek V. Kupní cena a platební podmínky

1. Celková cena předmětu plnění za dobu trvání smlouvy činí 232.960,00 Kč bez DPH (dvěstětřicetdvatisícdevětsetšedesát). Sazba DPH činí 21%. Celková výše DPH činí 48.921,60 Kč (čtyřicetosmtisícdevětsetdvacetjednacíhšedesát). Celková cena předmětu plnění včetně DPH činí 281.881,60 Kč (dvěstěosmdesátjednatisícosmsetosmdesátjednacíhšedesát).

2. Jednotková cena za zboží je smluvními stranami sjednána následujícím způsobem:
 - Zboží, bude po celou dobu platnosti této smlouvy poskytováno kupujícímu za jednotkové ceny uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy. Těmito cenami jsou smluvní strany vázány a prodávající není oprávněn tyto ceny po dobu platnosti této smlouvy měnit.
 - Na základě objednávek zaplatí kupující prodávajícímu cenu, která se vypočte v rámci příslušné objednávky dle skutečného počtu skutečně dodaného zboží v rámci příslušné objednávky, tzn., dle skutečného počtu kusů konkrétního zboží a jednotkové ceny uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy, která je konečná, neměnná a platná po celou dobu trvání smlouvy.
3. Součástí kupní ceny a dodávky je český návod pro použití zboží, balné, doprava na místo plnění, pojistné za pojištění zboží během dopravy, celní a daňové poplatky.
4. Ke kupní ceně prodávající účtuje daň z přidané hodnoty podle právních předpisů platných v době uskutečnění zdanitelného plnění.
5. Jednotkové ceny za zboží uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy je možné překročit pouze v závislosti se změnou daňových předpisů týkajících se DPH.
6. V případě, že dojde na trhu (během trvání smlouvy) ke snížení jednotkové ceny za zboží uvedeného v Příloze č. 1, je prodávající povinen provést snížení jednotkové ceny uvedené v Příloze č. 2 této smlouvy na srovnatelnou úroveň. Prodávající změny oznámí kupujícímu písemně.
7. Kupující zaplatí kupní cenu na základě faktury, kterou prodávající vystaví po dodání zboží na základě smlouvy. Přílohou faktury musí být dodací list potvrzený kupujícím, specifikující dodanou položku zboží, její množství a cenu. Ke každé objednávce bude vystavena samostatná faktura s uvedením čísla objednávky.
8. Faktura vystavená prodávajícím je daňovým dokladem a musí mít náležitosti daňového dokladu stanovené v zákoně č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů a stanovené touto smlouvou a musí být doručena kupujícímu.
9. Faktura je splatná ve lhůtě 30 kalendářních dnů ode dne prokazatelného doručení faktury kupujícímu, není-li na faktuře vyznačena delší lhůta splatnosti.
10. Jestliže faktura nebude obsahovat náležitosti stanovené právními předpisy a touto smlouvou, nebo jestliže údaje v ní uvedené nebudou správné, budou přepisované nebo jinak opravované, je kupující oprávněn vrátit ji ve lhůtě splatnosti prodávajícímu s uvedením chybějících náležitostí nebo nesprávných údajů. V takovém případě se přeruší lhůta splatnosti a počne běžet znovu ve stejné délce doručením opravené faktury do sídla kupujícího.
11. Platba faktury se považuje za uskutečněnou odepsáním příslušné částky z účtu kupujícího.
12. V případě, že se prodávající stane nespolehlivým plátcem ve smyslu § 106a zákona č. 235/2004 Sb., o dani z přidané hodnoty, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon o DPH“), je povinen o tom neprodleně písemně informovat kupujícího. Bude-li prodávající ke dni uskutečnění zdanitelného plnění veden jako nespolehlivý plátc

nebo číslo bankovního účtu prodávajícího uvedené na faktuře nebude zveřejněno způsobem umožňujícím dálkový přístup podle § 96 zákona o DPH, je kupující oprávněn část kupní ceny odpovídající dani z přidané hodnoty uhradit přímo na účet správce daně v souladu s ust. § 109a zákona o DPH. O tuto částku bude ponížena celková kupní cena a prodávající obdrží kupní cenu bez DPH. Proávající souhlasí a bere na vědomí, že shora uvedeným postupem je zcela splněn závazek kupujícího uhradit vyfakturovanou kupní cenu. V případě, že z důvodu porušení povinností vyplývajících ze zákona o DPH prodávající bude kupující jako ručitel vyzván příslušným správcem daně k zaplacení dlužné částky DPH za prodávajícího, a to z jakéhokoliv důvodu, a tuto dlužnou částku DPH za něj uhradí, zavazuje se prodávající uhradit kupujícímu tuto dlužnou částku do 30 dní ode dne, kdy k tomu bude ze strany kupujícího písemně vyzván. V případě, že se prodávající stane nespolehlivým plátcem ve smyslu tohoto odstavce, má kupující současně právo od této smlouvy odstoupit s účinky do budoucna.

13. Kupující neposkytuje zálohy.

Článek VI. Místo plnění

1. Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Partyzánské náměstí 2633/7, Moravská Ostrava, 702 00 Ostrava, Centrum klinických laboratoří.

Článek VII. Nebezpečí škody na zboží a vlastnické právo

1. Proávající prohlašuje, že zboží je výhradně jeho vlastnictvím, není předmětem zástavy a ni jiného závazku a že mu není známo, že by zboží bylo zatíženo jakýmikoliv právy třetích osob.
2. Riziko ztráty, zničení nebo poškození dodávaného zboží nese do okamžiku jeho převzetí prodávající.
3. Nebezpečí škody na zboží a vlastnické právo přechází na kupujícího převzetím zboží.

Článek VIII. Odpovědnost za vady

1. Kupující je povinen vady zboží, které zjistil při prohlídce zboží (neodpovídající doba použitelnosti zboží - expirace, nekompletnost dodávky, zjevné vady zboží, atp.), oznámit prodávajícímu bez zbytečného odkladu písemně poté, kdy je zjistil, nejpozději však do uplynutí doby použitelnosti (expirace) zboží.
2. Proávající je povinen zboží s vadami bez zbytečného odkladu po jejich oznámení vyměnit a dát kupujícímu zboží bezvadné. V případě, že to není možné, vrátí kupující prodávajícímu zboží oproti dobropisu.
3. Kupující má právo také na odstranění vad vzniklých po převzetí zboží kupujícím, pokud je prodávající způsobil porušením své povinnosti. Projeví – li se vada v průběhu 6 měsíců od převzetí zboží, má se za to, že dodaná věc byla vadná již při převzetí.
4. Kupující má právo na úhradu nutných nákladů, které mu vznikly v souvislosti

s uplatněním práva z odpovědnosti prodávajícího za vady.

Článek IX. Prodlení s dodáním zboží

1. V případě prodlení prodávajícího s dodáním objednaného zboží oproti termínu dle ust. Čl. II. odst. 1 této smlouvy je prodávající povinen zaplatit kupujícímu smluvní pokutu ve výši 0,1 % z kupní ceny objednaného zboží, s jehož dodáním se prodávající dostal do prodlení, a to za každý byt i jen započatý den prodlení.
2. Pro případ nekompletní dodávky, nebo není-li dodáno zboží správně podle objednávky, sjednává se smluvní pokuta ve výši 500,- Kč za každé takovéto porušení, kterou je povinen uhradit prodávající kupujícímu. Tato sankce se neuplatňuje v případě, že nekompletnost dodávky byla kupujícím doložitelně akceptována.
3. Smluvní strany se dohodly, že závazek zaplatit smluvní pokutu nevyklučuje právo na náhradu škody.

Článek X. Ostatní ujednání

1. V případě, že se kupující dostane do prodlení s úhradou faktury, má prodávající právo požadovat úrok z prodlení pouze v zákonné výši dle nařízení vlády č.351/2013 Sb., v platném znění.

Článek XI. Závěrečná ustanovení

1. Vztahy účastníků z této smlouvy se řídí příslušnými ustanoveními zákona č.89/2012 Sb., občanský zákoník.
2. Smluvní strany na sebe přebírají nebezpečí změny okolností v souvislosti s právy a povinnostmi smluvních stran vzniklými na základě této smlouvy. Smluvní strany vylučují uplatnění ust. § 1765 odst. 1 a § 1766 občanského zákoníku na svůj smluvní vztah založený smlouvou.
3. Tuto smlouvu lze změnit nebo zrušit jen písemně, nevyplývá-li z jejich ustanovení něco jiného.
4. Kupující má právo tuto smlouvu vypovědět s výpovědní lhůtou jednoho měsíce, která počíná běžet prvním dnem kalendářního měsíce následujícího po kalendářním měsíci, v němž byla výpověď doručena druhé smluvní straně, jestliže:
 - a) Prodávající opakovaně (nejméně třikrát) nepotvrdí přijetí objednávky ve lhůtě stanovené dle ust. Čl. II. odst. 3. této smlouvy; nebo
 - b) Prodávající opakovaně (nejméně třikrát) nedodá zboží dle objednávky ve lhůtě stanovené dle ust. Čl. II. odst. 1 této smlouvy.
5. Prodávající má právo tuto smlouvu vypovědět s výpovědní lhůtou dvou měsíců, která počíná běžet prvním dnem kalendářního měsíce následujícího po kalendářním měsíci, v němž byla výpověď doručena druhé smluvní straně v případě, že kupující bude

v prodlení s úhradou řádně vystavené a doručené faktury za dodané dodávky zboží delším než 30 dní od uplynutí lhůty splatnosti takové faktury a k úhradě nedojde ani po písemné výzvě prodávajícího.

6. Tuto smlouvu může vypovědět i kterákoliv ze smluvních stran i bez uvedení důvodu s výpovědní lhůtou dvou měsíců, která počíná běžet prvním dnem kalendářního měsíce následujícího po kalendářním měsíci, v němž byla výpověď doručena druhé smluvní straně.
7. Tato smlouva může být měněna pouze písemně, přičemž za písemnou formu nebude pro tento účel považována výměna e-mailových či jiných elektronických zpráv.
8. Případné spory z této smlouvy se smluvní strany zavazují přednostně řešit smírnou cestou. Nebude – li takto dosaženo vzájemné dohody, je kterákoli ze smluvních stran oprávněna obrátit se na věcně a místně příslušný soud České republiky.
9. Prodávající dále souhlasí a je srozuměn se skutečností, že kupující může být na základě zákona č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, ve znění pozdějších předpisů a zákona č. 340/2015 Sb., o registru smluv, povinen uveřejnit tuto smlouvu v registru smluv nebo o této smlouvě a právním vztahu jí založeném zpřístupnit či poskytnout všechny informace, které citované zákony nebo jiné právní předpisy z uveřejnění nebo zpřístupnění nevyklučují.
10. Smluvní strany se shodují, že zveřejnění této smlouvy v registru smluv podle zákona č. 340/2015 Sb., zajistí kupující.

11. Kontaktní osoby:

Za kupujícího je oprávněn jednat:

[REDACTED]

Ve věci objednávek:

[REDACTED]

Za prodávajícího je oprávněn jednat:

[REDACTED]

Ve věci objednávek:

[REDACTED]

12. Tato smlouva je vyhotovena ve stejnopise v elektronické podobě.
13. Nedílnou součástí této smlouvy jsou:
 - Příloha č. 1 Specifikace nabízených diagnostických souprav
 - Příloha č. 2 Jednotková cena zboží.
14. Smluvní strany podpisem smlouvy prohlašují, že se s obsahem této smlouvy seznámily

a bez výhrad s ní souhlasí.

V Ostravě dne:

za kupujícího:

Ing. Eduard Ježo
Digitálně podepsal
Ing. Eduard Ježo
Datum: 2021.03.23
12:02:54 +01'00'

Ing. Eduard Ježo
ředitel Zdravotního ústavu se sídlem v Ostravě

V, dne:

za prodávajícího:
elektronický podpis

Digitálně podepsal
Datum: 2021.03.22
10:33:14 +01'00'

Digitálně podepsal
Datum: 2021.03.22
10:30:17 +01'00'

Příloha č. 1 Specifikace nabízených diagnostických souprav

T-cell BlastoFlowEx Kit
Kat. č. ED7642

Popis

Souprava T-cell BlastoFlowEx[®] Kit je určena k měření proliferace odpovědi T-lymfocytů v aktivovaných vzorcích lidské krve. K detekci proliferujících lymfocytů využívá souprava směsi protilátek (anti-CD3 a anti-Ki-67).

Specifikace

Fix and Lysing Solution (10x koncentrováný) obsahuje fixující lyzující roztok.
Permeabilizing Solution (10x koncentrováný) obsahuje permeabilizující roztok.
EDTA (připravený k použití) obsahuje pufovaný roztok dvojmocnej chelatující soli.
CD3 APC / Ki-67 PE (Připravený k použití) obsahuje směs protilátek v stabilizujícím pufru (viz tabulka níže).

Obsah	2 x 2,5 ml	
Použití	50 µl na test	
Specifická	CD3	Ki-67
Klon	MEM-57	Ki-67
Izotyp (myši)	IgG2a	IgG1
Fluorochrom	APC	R-PE
Excitační maximum	633 nm	488 nm
Emisní maximum	660 nm	575 nm

Poskytované materiály

ED7642-1: Fix and Lysing Solution, 10x konc., 1 x 25 ml,
ED7642-2: Permeabilizing Solution, 10x konc., 1 x 10 ml,
ED7642-3: EDTA, roztok, 1 x 2,5 ml,
ED7642-4: CD3 APC / Ki-67 PE, směs protilátek, 2 x 2,5 ml.
Obsah soupravy je určený pro provedení 100 reakcí a odpovídá 50 testům.

Nutné, ale neposkytované materiály

Deionizovaná voda

PBS (fyziologický roztok pufovaný fosfátem)
5ml testové zkumavky (12 x 75 mm)

Skladování a nakládání s produktem

Skladujte T-cell BlastoFlowEx Kit při 2-8 °C.

Doba použitelnosti je výtiskována na etiketě každé z komponent a na krabici soupravy.

Doba použitelnosti po prvním otevření soupravy se od doby skladování výtiskována na etiketách komponent a balení soupravy neliší.

Výstrahy, předběžná opatření a omezení

- Reagencie je určena pouze pro výzkumné účely.
- Nepoužívejte soupravu ani jednotlivé komponenty po jejich expiraci.
- Vyhnete se kontaminaci komponent.
- Nevystavujte dlouhodobě světlu.
- Nezamrazujte soupravu ani jednotlivé komponenty.
- Fix and Lysing Solution a Permeabilizing Solution obsahují formaldehyd, methanol a dietylen glykol.
Tyto roztoky jsou dle regulace (EC) 1907/2006 klasifikované jako nebezpečné. Používejte ochranné rukavice, ochranný oděv, ochranu očí a tváře při práci s těmito roztoky.

H věty

H302+312+332: Zdraví škodlivý při požití, při styku s kůží a při vdechování.

H315: Dráždí kůži.

H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H319: Způsobuje vážné podráždění očí.

H335: Může způsobit podráždění dýchacích cest.

H351: Podezření na vyvolání rakoviny.

H371: Může způsobit poškození orgánů.

H373: Může způsobit poškození ledvin při prodloužené nebo opakované expozici (požití).

P věty

P270: Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte ani nekuřte.

P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

P301+P312: PŘI POŽITÍ: Necitíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře/...

P302+P352: PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody s mýdlem.

P305+P351+ P338: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

• EDTA reagencie obsahuje Ethylenediamine tetraoctovou kyselinu-Na2-sůl.

Roztok komponenty je dle (EC) 1907/2006 klasifikován jako Nebezpečný

H věty

H373: Může způsobit poškození orgánů (ledviny) při prodloužené nebo opakované expozici požitím.

P věty

P260: Nevdechujte prach / dým / plyn / mlhu / páry / aerosoly.

P314: Necitíte-li se dobře, vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

P501: Odstraňte obsah/obal.

- Detailní informace o příslušných H-větách a P-větách naleznete v bezpečnostním listu soupravy T-cell BlastoFlowEx[®] Kit.
- Lidské biologické vzorky, tj. krevní vzorky a vše, co s nimi přišlo do přímého styku, jsou vždy považovány za potenciálně infekční materiál a musí být s nimi patřičně nakládáno. Používejte ochranné rukavice a následujte pokyny pro manipulaci s infekčním materiálem. Zamezte kontaktu krevního vzorku s kůží, očima a sliznicí.
- Krevní vzorek určený k stimulaci musí být odebrán do zkumavky obsahující anticoagulant heparin. Anticoagulant EDTA a citrát negativně ovlivní stimulační odpověď.
- Průtokový cytometr musí být pravidelně kalibrován pomocí fluorescenčních kuliček pro zařazení stability citlivosti detektorů.
- Průtokový cytometr může poskytovat nesprávné výsledky, pokud nebude kalibrován a servisován pravidelně.

Aplikace

Měření úrovně proliferativní odpovědi T-lymfocytů.

Stimulace plné krve v zkumavkách

POZNÁMKA: Souprava byla optimalizována pro detekci z plné krve stimulované přímo v cytometrických zkumavkách (12 x 75 mm). Jednorázové zkumavky obsahující lyofilizované mitogeny jsou dodávány firmou EXBIO pod níže uvedenými katalogovými čísly:

ED7634 (PHA), Cat.No. ED7635 (PWM), Cat.No. ED7636 (Con A), Cat.No. ED7637 (Stimulation Negative Control), Cat. No. ED7673 (CD3/CD28).

1. Umístěte zkumavky s mitogenem do laminárního boxu. (Pokud používáte zkumavky EXBIO, odvíkejte je, ale ponechte je uvnitř laminárního boxu).

2. Přidejte 0,5 ml kultivačního media do zkumavky.

3. Přidejte 50 µl plné krve (s anticoagulantem heparin).

4. Zavičkejte zkumavky a promíchajte obsah na vortexu.

5. Ujistěte se, že víčka jsou nasazená do pozice umožňující ventilaci, a umístěte zkumavky do inkubátoru (37 °C, 5% CO₂) na dobu alespoň 3 dnů.

Detekce T-lymfocytů exprimujících Ki-67 pomocí T-cell BlastoFlowEx kit

Příprava reagencí

Fix and Lysing Solution:

Roztok naředíte 10x v deionizované vodě. Připravte si pro každou reakci alespoň 2 ml naředěného roztoku.

Permeabilizing solution:

Připravte si pro každý vzorek alespoň 0,5 ml naředěného roztoku.

Potřebné pro manipulaci

Lahvičky a kádinky pro ředění roztoků / komponent soupravy

Vortex mixer

Automatické pipety s jednorázovými špičkami

Centrifuga s rotorem pro 5ml zkumavky

Odpadní nádoba s dezinfekcí na sběr supernatantů po centrifugaci

Průtokový cytometr - modrý laser s excitací 488 nm a 633 nm a s vhodnou sadou filtrů.

Postup

1. Vyměňte zkumavky z inkubátoru. Odvíčejte (víčko vyhoďte do odpadu). Do každé zkumavky přidejte 25 µl roztoku EDTA a zamíchejte obsah.
2. Nechte inkubovat po dobu 10 minut při 37 °C.
3. Přidejte 2 ml PBS, promíchejte.
Centrifugujte buňky při 400g po dobu 5 minut.
Slijte supernatant.
4. Jemně protřepejte obsah, abyste uvolnili sediment ze dna zkumavek.
Přidejte 2 ml naředěného Fix and Lysing Solution, promíchejte.
Nechte inkubovat po dobu 10 minut při laboratorní teplotě.
5. Centrifugujte buňky při 400g po dobu 5 minut.
Slijte supernatant.
6. Přidejte 0,5 ml naředěného Permeabilizing Solution, promíchejte.
Nechte inkubovat po dobu 10 minut při laboratorní teplotě.
7. Přidejte 2 ml PBS.
Centrifugujte buňky při 400g po dobu 5 minut.
Slijte supernatant.
8. Přidejte 50 µl směsi protilátek CD3 APC/ Ki-67 PE, promíchejte.
Inkubujte nejméně 30 minut v temnu při laboratorní teplotě.
9. Přidejte 2 ml PBS.
Centrifugujte buňky při 400g po dobu 5 minut.
Slijte supernatant.
10. Resuspendujte buňky v 0,1 - 0,2 ml pufru PBS s 1% formaldehydem anebo v Fix and Lysing Solution naředěném do PBS (smíchejte 1 díl Fix nad Lysing Solution a 9 dílů PBS).
Obarvené vzorky skladujte v temnu při teplotě 2-8 °C až do analýzy v průtokovém cytometru.

Analýza v průtokovém cytometru

Nastavte napětí na detektorech rozptylu světla, přední rozptyl světla (FSC; forward light scatter) a bočním rozptylu světla (SSC; side (perpendicular) light scatter) tak, aby požadované události byly ve škále (stimulované a nestimulované vzorky se v FSC a SSC signálu liší).

Nastavte práh detekce (threshold) na přední rozptyl světla (FSC) tak, aby byly zaznamenány pouze požadov. Nenastavujte threshold na fluorescence v APC detektoru: dle zkušenosti to může způsobit zkreslení dosažených výsledků z důvodu zpracování fluorescenčního pozadí při analýze cytometrem.

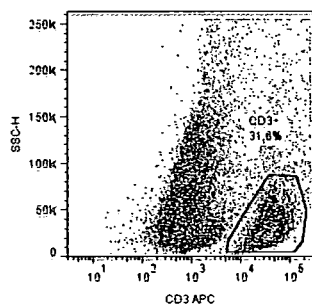
Nastavte napětí na detektorech fluorescence tak, že všechny požadované události jsou ve škále.

Nastavte škálování na detektoru předního rozptylu světla (FSC) pro přístroje BD pro dosažení lepší diskriminace mezi singletovými a doubletovými událostmi. Při správném nastavení škálování je plocha píku signálu (FSC-A) srovnatelná s výškou signálu (FSC-H) a singletové události vytvářejí diagonálu (45° a prochází nulou) v dot-plot FSC-A vs. FSC-H.

Vynechte všechny události jako SSC vs CD3 APC fluorescence. Ochraniče CD3+ události (Obrázek 1).

Zaznamenejte alespoň 3,000 CD3+ lymfocytů na vzorek.

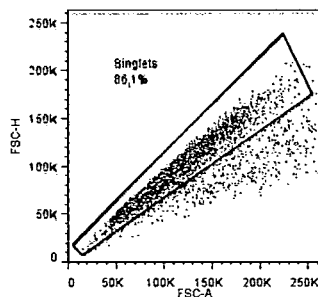
Obrázek 1 Ochraniče CD3+ buněk (PHA stimulace).



Analýza vzorků

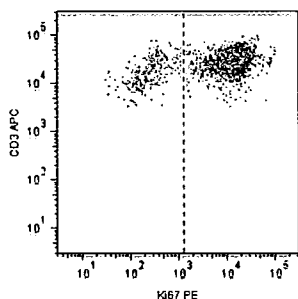
Ochraniče singletové CD3+ události v diagonále dot-plotu FSC-A vs. FSC-H (Obrázek 2).

Obrázek 2 Ochraniče singletových událostí (PHA stimulace).



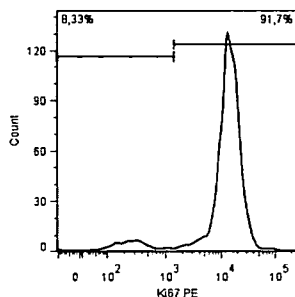
Zkontrolujte rozložení signálu Ki-67 v PE zobrazením CD3+ singletů v dot-plotu CD3 APC signálu na ose Y proti Ki-67 PE signálu na ose X. Nastavte nejvhodnější diskriminaci mezi negativní a pozitivní populací (přerušovaná čára) (Obrázek 3).

Obrázek 3 Ki-67 fluorescence (PHA stimulace).



Zobrazte CD3+ singletové události v histogramu fluorescence v PE detektoru. Rozdělte separátorem negativní (vlevo) a pozitivní (vpravo) pik. Strategii ohraničení buněk aplikujte na všechny zkumavky a vyhodnoťte procentuální zastoupení singletů CD3+Ki-67+ (Obrázek 4).

Obrázek 4 Vyhodnocení procentuálního zastoupení (PHA stimulace).



n/a

EXBIO Praha, a.s.
Nad Safinou II 341
252 50 Vestec
Czech Republic
info@exbio.cz
technical@exbio.cz
orders@exbio.cz
www.exbio.cz

n/a

- Verze 1, ED7042_TDS_v1
První vydání
- Verze 2, ED7042_TDS_v2
Oprava textových chyb
- Verze 3, ED7042_TDS_v3
Doporučená odstředivá centrifugační síla v rámci postupu zpracování změněna z 300 g na 400 g. Doporučení rozmíchání buněčné pellety doplněno ke kroku 4 v postupu.
- Verze 4, ED7042_TDS_v4
Dodávané množství komponenty Permeabilizing Solution změněna ze 6 ml na 10 ml.
- Verze 5, ED7042_TDS_v5
Logo společnosti bylo změněno. rozložení příbalového letáku bylo změněno.
PSC výrobce bylo změněno z 25242 na 25250. Princip testu, většina textu zabývající se stimulací krve a materiál potřebný pro stimulaci byly vynechány z příbalového letáku Příklad analýzy kontrolní negativní stimulace není obsažen v příbalovém letáku.
- Verze 6, ED7042_TDS_v6
Aktualizace sekce Výstrahy, předběžná opatření a omezení.

Reference

Výrobce

Ochranné známky

Historie revizí

Symboły

- Katalogové číslo
- Číslo šarže
- Spotřebujte do
- Rozmezí skladovacích teplot
- Pozorně přečtěte příbalový leták
- Chraňte před slunečním zářením
- Výrobce
- Pouze pro výzkumné účely.
Nepoužívat pro diagnostické a
terapeutické procedury.

RUO

Příloha č. 2 Jednotková cena zboží

Název	Jednotka	Obchodní název	Cena za 1 balení v Kč bez DPH	Sazba DPH v %	Cena za 1 balení v Kč včetně DPH	Katalogové číslo
Stanovení lymfocytární proliferace	Balení (100 testů)	T-celí BlastoFlowEx Kit	8.960,00	21	10.842,00	ED7642

Digitálně podepsal

Datum: 2021.03.22
10:33:55 +01'00'

Podpis prodávajícího

Digitálně podepsal

Datum: 2021.03.22
10:31:30 +01'00'