ООО «Абисенс»

ABISENSE
www.abisense.ru

ОГРН 1187746448977, ИНН 9710059340, КПП: 237801001
354340, Краснодарский край, ф.т. Сириус, пгт. Сириус,
пр-кт Олимпийский, д.1, помещ. 1-07-13
Почта: 141700, Московская область, г. Долгопрудный,
ул. Дирижабельная, 13, а/я 3.
Тел: +7(495)973-39-93 E-mail: contact@abisense.com
р/сч: 40702810270010282764
в Московский филиал АО КБ "Модульбанк",
БИК: 044525092, к/сч: 30101810645250000092

Паспорт на

реагент производства ООО «Абисенс»

AbiCell Resazurin Cytotoxicity Assay Kit

Условия хранения: реагент необходимо хранить при температуре 2 – 8 °C в защищённом от света месте.

⚠ **Ознакомьтесь с инструкцией по технике безопасности перед использованием.**

Метод исследования цитотоксичности на основе резазурина базируется на способности живых клеток превращать синий нефлуоресцентный краситель, **резазурин**, в розовый флуоресцентный, **резоруфин** (рис.1), что позволяет определять цитотоксичность клеток колориметрически или флуориметрически. Восстановление резазурина осуществляется широким спектром ферментов клеток (митихондриальными и цитоплазматическими дегидрогеназами, цитохромами и другими). Жизнеспособные клетки непрерывно превращают резазурин в резофурин, увеличивая общую флуоресценцию и цвет среды для культивирования клеток.

Отношение жизнеспособных клеток можно количественно определить, регистрируя спектры флуоресценции с экспериментальных образцов при длинах волн возбуждения/эмиссии флуоресценции, а также максимума поглощения резофурина (рис. 2).

Приблизительные максимумы возбуждения/эмиссии флуоресценции: 540–570/580–610 нм. Пики возбуждения/эмиссии флуоресценции составляет 570/585 нм.

Максимум поглощения: 570 нм (дополнительно необходимо снимать спектр при 600 нм в качестве фонового поглощения).

Протокол использования:

Примечание: исходный раствор резазурина является 100-кратным, перед использованием необходимо разбавить стоковый раствор в 100 раз фосфатно-солевым буфером (pH 7.4).

1. Рассеять клетки в необходимой концентрации на 96-луночный планшет в объёме 100 мкл среды/лунку. Для последующего анализа на основе флуоресценции необходимо также включить контрольные лунки с 100 мкл полной культуральной среды без клеток в качестве фонового контроля.
2. Рассеянные клетки культивировать до момента достижения необходимой плотности, после чего в каждую лунку добавить по 100 мкл 1-кратного раствора резазурина и тщательно перемешать.
3. Инкубировать при 37 °C от 30 минут до 4 часов. При необходимости можно использовать более длительное время инкубации для повышения чувствительности системы.

Примечание: сигнал с одного и того же планшета можно считывать в несколько моментов времени, чтобы определить оптимальное время инкубации для вашего типа клеток, а также при различной плотности клеток.

4. Для колориметрического анализа измерьте оптическую плотность при 570 нм и при 600 нм, используя микропланшетный анализатор. Для флуориметрического анализа измерьте флуоресценцию с пиками возбуждения/эмиссии при 570/585 нм с помощью флуоресцентного микропланшетного анализатора.

Примечание: спектры возбуждения и эмиссии резоруфина довольно широкие, фильтры возбуждения должны быть в диапазоне 530–570 нм и фильтры эмиссии между 580-620 нм.

5. При колориметрическом анализе вычтите фоновое поглощение при 600 нм из поглощения резоруфина при 570 нм. При флуориметрическом анализе вычтите флуоресценцию при 585 нм фонового контроля (полная культуральная среда без клеток) для каждой лунки.
6. Результаты измерения представляются в виде графиков зависимости интенсивности флуоресценции/поглощения в зависимости от концентрации красителя.

Паспорт безопасности:

Внимание: натриевая соль резазурина может причинять вред при впитывании через кожу и при проглатывании. А также вызывать раздражение слизистых оболочек и дыхательных путей, провоцируя аллергические реакции, симптомы астмы или затруднение дыхания. При появлении раздражения или аллергических реакций необходимо срочно обратиться к специалисту.

Меры предосторожности: избегать вдыхания и прямого попадания на слизистые оболочки, использовать перчатки и защитную одежду.

При попадании на кожу: промыть большим количеством воды с мылом в течение 15 минут. Удалить загрязнение с одежды, необходимо постирать одежду перед повторным использованием.

При вдыхании: вывести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему покой в удобном для дыхания положении.

При попадании в глаза: преимущественно держать веки открытыми, осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз- предварительно их снять.

При проглатывании: промыть рот большим количеством воды.

При появлении респираторных и аллергических симптомов, а также если пострадавший находится в бессознательном состоянии: обратиться за медицинской помощью.