VivaFix™ Cell Viability Assay 取扱説明書

カタログ番号	品名		
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay	135-1115	VivaFix 498/521 Cell Viability Assay
135-1112	VivaFix 410/450 Cell Viability Assay	135-1116	VivaFix 547/573 Cell Viability Assay
135-1113	VivaFix 408/512 Cell Viability Assay	135-1117	VivaFix 583/603 Cell Viability Assay
135-1114	VivaFix 398/550 Cell Viability Assay	135-1118	VivaFix 649/660 Cell Viability Assay

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

使用目的

VivaFix cell viability assay はフローサイトメトリーや顕微鏡で哺乳類動物細胞の生存率を評価することが簡単に多目的にできる試薬です。ほとんどのフローサイトメトリー実験ではサンプル内の死細胞除去は非特異的な蛍光シグナルによるデータの誤解釈を防ぐために重要なステップです。

VivaFix Cell Viability Assay の独自の色素が共有結合的に第一級アミンに結合することによって、生細胞と死細胞とを簡単に区別することができます。 生細胞では、VivaFix 色素は、細胞表面の一次アミンに結合します。原形質膜が損なわれた死細胞の場合、色素が細胞質内に浸透し、細胞内の一級アミンと反応します。その結果、より多くの蛍光分子が死細胞に取り込まれるため、生細胞と死細胞とでは蛍光強度に少なくとも 100 倍の差が生じることにより、二つの集団(FIG1)を容易に識別することが可能になります。

VivaFix は、幅広い範囲の励起/蛍光スペクトルでの利用可能であり、マルチカラー実験に組み合わせるのに最適です。VivaFix 色素は、細胞固定とした場合にも蛍光の著しい退光がなくご使用頂けます。

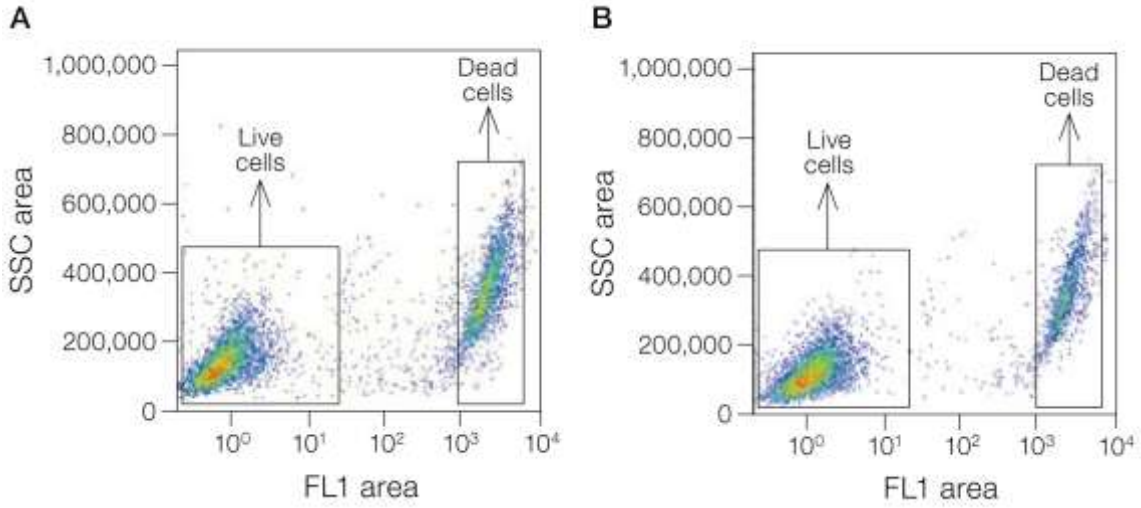

図 1 VivaFix 細胞生存率アッセイを使用した生細胞と死細胞の間で優れた分離。
Jurkat 細胞を固定し、**VivaFix498/521** 色素を用いて染色した 。(**A**)**3.7**%ホルムアルデヒドで固定した。
(**B**)未固定サンプル。**S3**™セルソーターで分析した。 **SSC** は側方散乱光。

キット構成

キット構成品	数量	保存条件
VivaFix viability Dye	4 バイアル(50 回分/バイアル)	-20℃
DMSO	1 バイアル(250 μl)	-20℃

細胞固定可能な細胞生存率アッセイ

以下の表を使用して、サンプルに最適な VivaFixAssay を選択してください。

表 1 最適励起レーザー波長

カタログ番号	品名	最適励起レーザー nm	S3 488nm	S3 488/561nm	S3 488/640nm
135-1111	VivaFix 353/442 Cell Viability Assay	405	–	–	–
135-1112	VivaFix 410/450 Cell Viability Assay	405	–	–	–
135-1113	VivaFix 408/512 Cell Viability Assay	405	–	–	–
135-1114	VivaFix 398/550 Cell Viability Assay	405	–	–	–
135-1115	VivaFix 498/521 Cell Viability Assay	488	FL1 (525/30)	FL1 (525/30)	FL1 (526/48)
135-1116	VivaFix 547/573 Cell Viability Assay	561	–	FL2 (586/25)	–
135-1117	VivaFix 583/603 Cell Viability Assay	561	–	FL3 (615/25)	–
135-1118	VivaFix 649/660 Cell Viability Assay	640	–	–	FL3 (700LP)

プロトコール

重要: 使用前にすべてのバイアルを解凍してからご使用ください。

注意: アジ化ナトリウム、血清、タンパク質を含まないバッファーの代わりとしてリン酸緩衝生理食塩水(PBS)を使うことができます。

1. VivaFix Dye バイアルに DMSO 50 μl を加えて、ボルテックスミキサー等で良く混和し 500x のストック溶液を作成する。
2. サンプル細胞を PBS で洗浄し、2～3 x 10^6 cell/ml の濃度で PBS 中に再懸濁する。
3. 0.5ml cells/assay に対してステップ1で作成した 500x ストック溶液を 1 μl を加えてボルテックス等で混和する。
4. 遮光の上、室温で 30 分間もしくは 37℃/5% CO_2 インキュベーターでインキュベートする。

注意: 異なる細胞株に対する最適な色素濃度並びにインキュベーション時間は実験的に評価をする必要があります。

5. 細胞を PBS で 2 回洗浄する。
6. 必要があれば細胞を固定化する。3.7%ホルムアルデヒドの場合:
   - ステップ5に続いて 900 μl の PBS で細胞を再懸濁する。
   - 細胞懸濁液に 100 μl の 37%ホルムアルデヒドを加えます。
   - 室温で 15 分インキュベートしてから、PBS で細胞を 2 回洗浄します。
7. フローサイトメトリー用分析バッファー中に細胞を再懸濁する。
8. S3 セルソーターもしくはフローサイトメーターで細胞を分析もしくはソーティングする。

BIO-RAD バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
ライフサイエンス事業部

Visit us at http://www.bio-rad.com
本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 Tel : 03-6361-7000 Fax : 03-5463-8480
製品の学術的なお問い合わせは
Mail : life_ps_jp@bio-rad.com Tel : 03-6404-0331 Fax : 03-6404-0334