

IncuCyte™ Cytotox Reagents for Counting Dead Cells

Presentation, storage and stability

IncuCyte™ Cytotox Reagents 는 DMSO 에 용해된 상태의 1mM solution 이 각 vial 당 5µL 로 5 개의 vial 이 제공됩니다. 각각의 vial 은 96-well plate 1 개의 well 기준으로 100-200 회의 실험을 수행할 수 있습니다. 수령 후에는 -20°C 의 desiccator 에 보관하는 것이 좋습니다. 이 상태로 6-12 개월 간 보관이 가능합니다.

Background and intended use

IncuCyte™ Cytotox Reagents 는 sensitive cyanine nucleic acid dye 로, 간단한 mix-and-read 방식으로 cell death 의 real-time quantification 을 수행할 수 있습니다. IncuCyte™ Cytotox Reagents 의 첨가는 normal healthy cell 의 cell growth 나 morphology 에 영향을 주지 않으며, intrinsic fluorescent signal 이 관찰되지 않습니다. Cell 이 unhealthy 한 상태로 전환되어 plasma membrane 의 integrity 가 감소하면 IncuCyte™ Cytotox Reagents 가 cell 내부로 들어가 DNA(deoxyribonucleic acid)에 결합하여 100-1000-fold 형광의 증가가 나타납니다. IncuCyte ZOOM® integrated analysis software 를 이용하여 형광을 정량하고 background fluorescence 를 최소화할 수 있습니다.

IncuCyte™ Cytotox Reagents 는 IncuCyte ZOOM® live cell imaging system 을 이용하여 분석하기에 매우 적합하며, pharmacological agent 또는 genetic/environmental factor 에 의해 영향을 받는 cell membrane integrity 와 cell death 의 real-time evaluation 이 가능합니다. 또한, IncuCyte™ Cytotox Reagents 는 IncuCyte™ NuLight™ nuclear labeling reagent 나 IncuCyte™ Caspase 3/7 Reagent 와 함께 사용하여 하나의 well 에서 cell 의 proliferation 과 apoptosis 를 cytotoxicity 와 함께 확인할 수 있습니다.

Recommended use

IncuCyte™ Cytotox Reagents 각각의 vial 을 full media 나 PBS 에 100 µM 로 dilution 하여 보관하는 것을 권장 드립니다. Cell 을 seeding 한 96-well plate 에 treat 할 때에 full media 에 최종 농도 250nM 로 dilution 하여 사용하십시오. IncuCyte ZOOM® live cell imaging system 을 사용할 때, 2-3 시간 간격으로 imaging 하는 것을 권장 드립니다. Website 에 있는 protocol 을 참조해 주십시오.

essenbioscience.com/cytotox

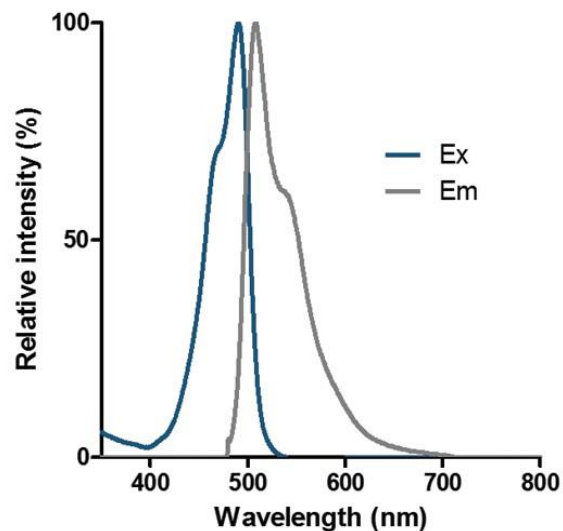
Safety data sheet (SDS) information

Safety data sheet(SDS)는 website 에서

확인할 수 있습니다.

essenbioscience.com/cytotox

A Cytotox Green Reagent



B Cytotox Red Reagent

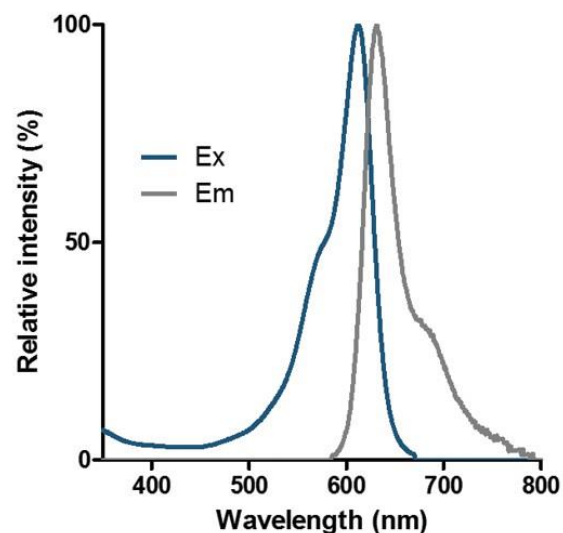
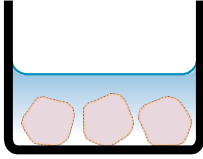


Figure 1. 수용액 상태에서 double-stranded calf thymus DNA 에 결합하는 (A) Green fluorophore 와 (B) Red fluorophore 의 excitation/emission spectra.

Quick guide

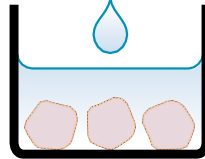
1 SEED TARGET CELLS



Cell Seeding

96-well plate 에 adherent cell 또는 suspension cell 을 1×10^3 - 1×10^4 cells/well 농도로 100 μ L media 에 풀어 seeding 한다. Overnight incubation 으로 cell 이 잘 붙도록 한다.

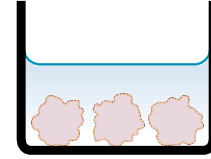
2 TREAT CELLS AND ADD INCUCYTE™ CYTOTOX REAGENT FOR COUNTING DEAD CELLS



Sample Treatment and IncuCyte™ Cytotox Reagent Addition

각 well 에 IncuCyte™ Cytotox Reagents 를 최종 농도의 3 배가 되는 농도로 media 50 μ L 에 dilution 하여 처리한다.

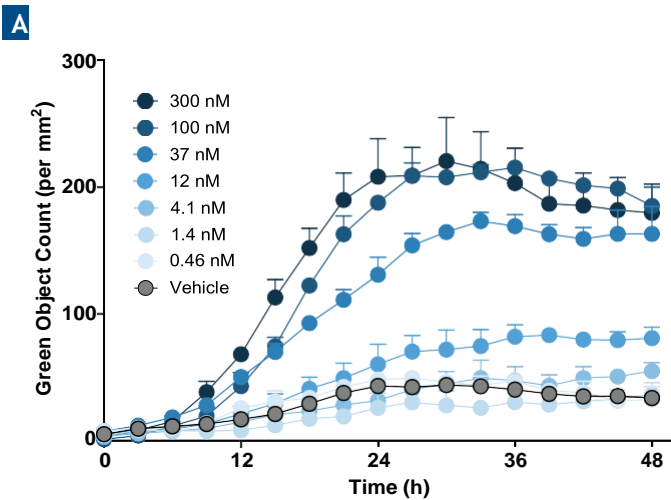
3 LIVE CELL FLUORESCENT IMAGING



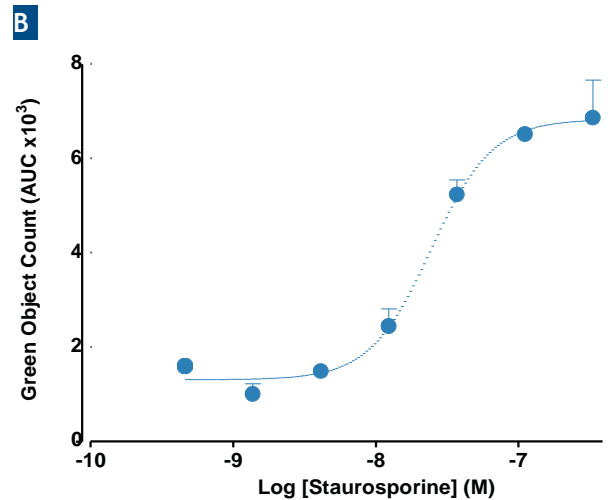
Automated Imaging and Quantitative Analysis

IncuCyte ZOOM®의 10x 또는 20x 렌즈를 이용하여 2-3 시간 마다 imaging 하고 촬영된 이미지를 software 로 분석한다.

Figure 2. HT-1080 cells 에서 Staurosporine(protein kinase inhibitor) 처리에 따른 IncuCyte™ Cytotox Green Reagent 의 nucleic acid binding 증가 (Staurosporine 농도 의존적 / 시간 의존적)



(A) HT-1080 cell death 에 대한 Staurosporine 영향의 시간적 경과.



(B) 녹색 형광의 시간적 경과 data 를 활용, HT-1080 cell death 에 staurosporine 이 미치는 영향을 area under curve (AUC) analysis 를 통해 얻은 농도 반응 곡선. (Green object Count per mm²). AUC 평균값은 EC₅₀ 를 계산하는 데에 사용됨.

연구용으로만 사용하고 치료 목적이나 진단 목적으로 사용하지 마십시오.

Product	Cat No.	Amount	Ex. maxima	Em. maxima
IncuCyte™ Cytotox Red Reagent	4632	5 μ L x 5	612 nm	631 nm
IncuCyte™ Cytotox Green Reagent	4633	5 μ L x 5	491 nm	509 nm