

Наборы тестов на скорость окисления матрицы в условиях стресса Agilent XF: стандартный тест

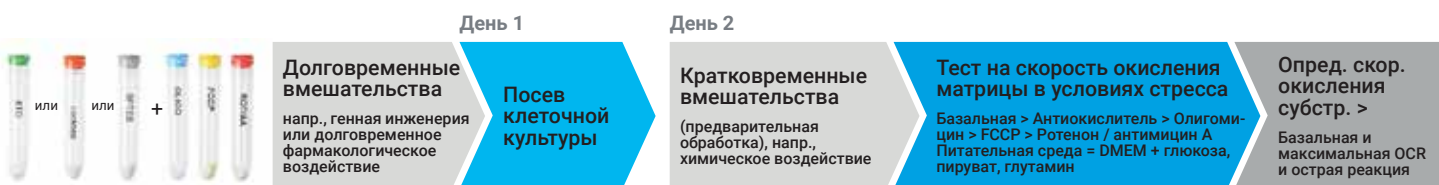


Рисунок 1. Схема стандартного эксперимента для теста на скорость окисления длинноцепочечных жирных кислот в условиях стресса Agilent XF (кат. № 103672-100), теста на скорость окисления глюкозы/пирувата в условиях стресса Agilent XF (кат. № 103673-100) и теста на скорость окисления глутамин в условиях стресса Agilent XF (кат. № 103674-100).

За один день до теста

1. Убедиться в том, что анализатор Agilent XF включен и уравновешен при температуре 37 °C (не менее 5 ч).
2. Выдержать патрон датчика для набухания в инкубаторе в стерильной или дистиллированной воде при 37 °C в атмосфере, не содержащей CO₂, в течение ночи.
3. Для закрепленных культур: высеять клеточную культуру с заданной плотностью в питательную среду для культивации.
4. С помощью шаблона «Расширенный тест» теста на скорость окисления пальмитата в условиях стресса Agilent XF создать в программе Agilent Wave схему теста и внести в нее необходимые изменения для соответствия плану вашего эксперимента.

День проведения теста

1. Завершить набухание патрона датчика: заменить воду калибровочным стандартом Agilent XF (200 мкл на лунку для планшета Agilent XF96, 500 мкл на лунку для планшета Agilent XF24) и инкубировать при 37 °C в атмосфере, не содержащей CO₂, в течение часа.
2. Приготовить 100 мл питательной среды для проведения теста: Добавить в среду Agilent XF DMEM или Agilent XF RPMI матрицы Agilent XF (табл. 1).
3. Откачать питательную среду с планшета с культурой и заменить ее питательной средой для проведения теста: 180 мкл для 96-луночного планшета, 500 мкл для 24-луночного планшета.
4. Поместить планшет с культурой в инкубатор при 37 °C в атмосфере, не содержащей CO₂, на 60 мин или в прибор Biotek для нормировки.
5. Приготовить базовый раствор: развести сухие соединения в питательной среде для проведения теста и перемешивать на вихревой мешалке около 1 мин (табл. 2 на обороте).

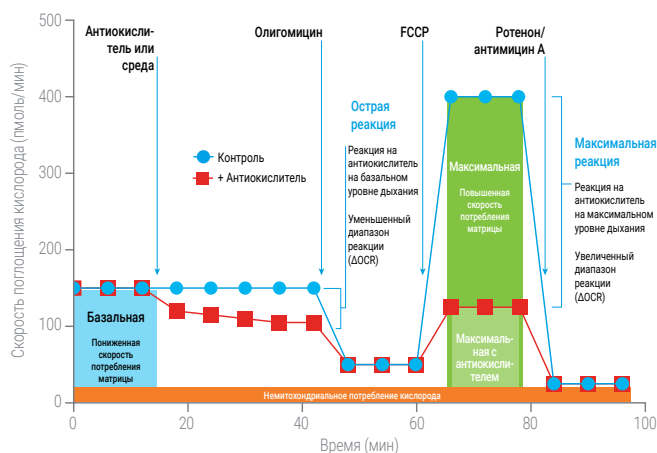


Рис. 2. Результаты стандартного теста.

Компоненты питательной среды для проведения теста	Объем (мл)	Конечная концентрация (ммоль/л)
Питательная среда Agilent Seahorse XF DMEM или RPMI, pH 7,4	97	–
Глюкоза Agilent XF Glucose (1 моль/л)	1,0	10
Пируват Agilent XF Pyruvate (100 моль/л)	1,0	1,0
Глутамин Agilent XF Glutamine (200 моль/л)	1,0	2,0

Таблица 1. Питательная среда для стандартного теста на скорость окисления матрицы в условиях стресса.

Порт	Соединение	Базовый раствор	Рабочие растворы десятикратной концентрации для заливки в порты инжектора		Объем, заливаемый в порт (мкл)	Конечная концентрация в лунке (ммоль/л)
		Объем питательной среды теста (мкл)	Объем базового раствора (мкл)	Объем питательной среды теста (мкл)	XFe96/XFe24	
A	Этомоксир или	700	500	1 500	20/56	4,0
	UK5099 или	700	500	1 500	20/56	2,0
	BPTES	700	500	1 500	20/56	3,0
B	Олигомицин	420	300	2 700	22/62	1,5
C	FCCP (использовать определенную перед проведением теста оптимальную концентрацию)	720	75	2 925	25/69	0,25
			150	2 850	25/69	0,5
			300	2 700	25/69	1,0
			600	2 400	25/69	2
D	Ротенон и антимицин А	540	300	2 700	27/75	0,5

Таблица 2. Стандартные тесты на скорость окисления матрицы в условиях стресса: базовые и рабочие растворы.

- Из базовых растворов приготовить рабочие растворы десятикратной концентрации, разбавив базовые растворы соответствующим количеством питательной среды для проведения теста (табл. 2).
- Перенести рабочие растворы в каждый из четырех портов инжектора (табл. 2). *Примечание. Для контрольного теста (с отсутствием антиокислителя) в порт А заливается питательная среда для проведения теста.*
- Открыть программу Agilent Wave и созданную ранее схему теста. По готовности нажать кнопку **Начать тест**.
- По запросу программы поместить заполненный патрон датчика в анализатор и нажать **Я готов**.
- После калибровки программа Agilent Wave выведет приглашение «Загрузите планшет с культурой». Нажать кнопку **Открыть поддон** и заменить вспомогательный планшет планшетом с культурой.
- Убедиться в том, что с планшета с культурой снята крышка и нажать **Загрузить планшет с культурой**, чтобы начать тест.
- Дополнительно: выполнить нормировку после проведения теста с помощью прибора Biotek.

Сведения о порядке заказа

Описание	Каталожный номер
Набор тестов на скорость окисления длинноцепочечных жирных кислот в условиях стресса Agilent XF	103672-100
Набор тестов на скорость окисления глюкозы/пирувата в условиях стресса Agilent XF	103673-100
Набор тестов на скорость окисления глутамина в условиях стресса Agilent XF	103674-100
Питательная среда Agilent Seahorse XF DMEM, pH 7,4	103575-100
Питательная среда Agilent Seahorse XF RPMI, pH 7,4	103576-100
Раствор глюкозы Agilent Seahorse XF, 1 моль/л	103577-100
Раствор пирувата Agilent Seahorse XF, 100 ммоль/л	103578-100
Раствор глутамина Agilent Seahorse XF, 200 ммоль/л	103579-100

Дополнительная информация

Руководство пользователя тестов на скорость окисления матрицы в условиях стресса Agilent XF:

www.agilent.com/chem/subox-usermanual

Центр обучения Agilent XF:

www.agilent.com/en/products/cell-analysis/how-to-run-an-assay

Техническая поддержка:

cellanalysis.support@agilent.com

Только для научно-исследовательских целей.
Не для использования в диагностических процедурах.

Информация в этом документе может быть изменена без уведомления.

© Agilent Technologies, Inc., 2020.
Напечатано в США 28 января 2020 г.
5994-1715RU