

빠른 시작 안내서

XF 기질 산화 스트레스 측정 키트: 표준 분석

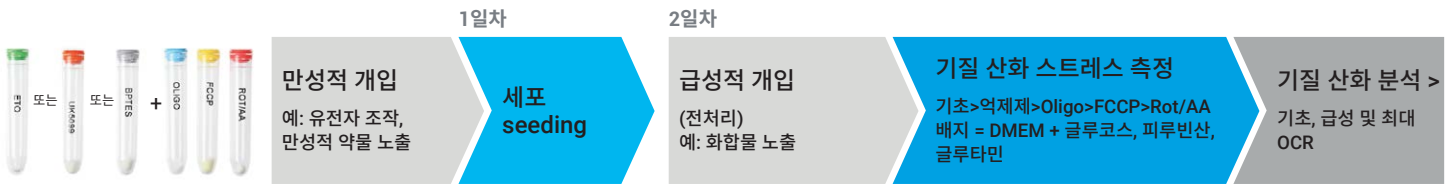


그림 1. XF Long Chain 지방산 산화 스트레스 측정 키트(p/n 103672-100), XF 글루코스/피루빈산 산화 스트레스 측정 키트(p/n 103673-100) 및 XF 글루타민 산화 스트레스 측정 키트(p/n 103674-100)의 표준 분석 디자인

분석 하루 전

1. XF 분석기의 전원이 켜져 있고 37°C로 온도 안정화(최소 5시간)를 유지해야 합니다.
2. 일반 (non-CO₂ 인큐베이터에서 37°C의 멸균수 또는 증류수에 센서 카트리지를 overnight 동안 hydration 시킵니다.
3. 부착 세포의 경우, 세포 배양 성장 배지에서 미리 정해진 세포수로 세포를 플레이트합니다.
4. XF 기질 산화 스트레스 측정 - 표준 분석 템플릿을 이용해 Wave에서 실험을 디자인하고 실험 디자인에 맞게 템플릿을 수정합니다.

실험 당일

1. 센서 카트리지 hydration 완료: 증류수를 XF 캘리브레이션(XF96의 경우 200µL/well 또는 XF24의 경우 500µL/well)으로 교체하고 이산화탄소가 공급되지 않는 37°C에서 (no CO₂)로 1시간 동안 배양합니다.
2. 100mL 전용 실험 배지 준비: XF 애질런트 기질로 XF DMEM 또는 XF RPMI를 보충합니다(표 1).
3. 세포 플레이트에서 배지를 제거하고 전용 실험 배지로 교체: 96-well plates의 경우 180µL, 24-well plates의 경우 500µL.
4. 세포 플레이트를 일반(non-CO₂) 37°C 인큐베이터에 60분 동안 배양하거나 보정(normalization)을 위해 Biotek 기기에 넣습니다.
5. Stock 솔루션 준비: 전용 실험 배지에 파우더 타입의 시약을 resuspend시키고 약 1분 동안 vortex 처리합니다(표 2, 뒷면).
6. Stock 솔루션을 이용하여 적당한 양의 전용 실험 배지와 혼합하여 10X working 솔루션을 준비합니다(표 2, 뒷면).

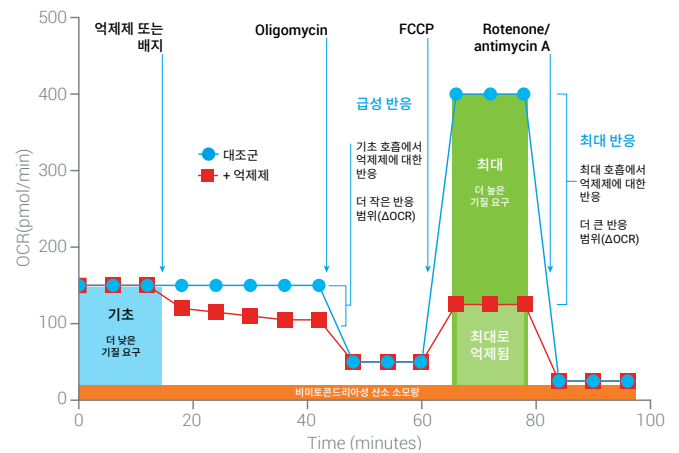


그림 2. 표준 실험 결과

| 실험 배지 성분 | 부피(mL) | 최종 농도(mM) |
|---|--------|-----------|
| Seahorse XF DMEM or RPMI Medium, pH 7.4 | 97 | - |
| XF Glucose(1M) | 1.0 | 10 |
| XF Pyruvate(100mM) | 1.0 | 1.0 |
| XF Glutamine(200mM) | 1.0 | 2.0 |

표 1. 표준 기질 산화 스트레스 측정 분석 배지

| 포트 | 화합물 | Stock 솔루션 | | 약물 주입 포트용 10X working 솔루션 | | 포트에 추가되는 볼륨(μL) | |
|----|---|--------------|--------------|---------------------------|-------------|-----------------|--|
| | | 실험 배지 볼륨(μL) | Stock 볼륨(μL) | 실험 배지 볼륨(μL) | XFe96/XFe24 | 최종 well 농도(μM) | |
| A | Etomoxir or | 700 | 500 | 1500 | 20/56 | 4.0 | |
| | UK5099 or | 700 | 500 | 1500 | 20/56 | 2.0 | |
| | BPTES | 700 | 500 | 1500 | 20/56 | 3.0 | |
| B | Oligomycin | 420 | 300 | 2700 | 22/62 | 1.5 | |
| C | FCCP (use optimal concentration determined prior to assay) | 720 | 75 | 2925 | 25/69 | 0.25 | |
| | | | 150 | 2850 | 25/69 | 0.5 | |
| | | | 300 | 2700 | 25/69 | 1.0 | |
| | | | 600 | 2400 | 25/69 | 2 | |
| D | Rotenone + antimycin A | 540 | 300 | 2700 | 27/75 | 0.5 | |

표 2. 표준 기질 산화 스트레스 측정: Stock 및 Working 솔루션

- 10X working 솔루션을 4개의 약물 포트 각각에 피펫팅합니다 (표 2). 참고: Port A에 대조군(예시, 억제제) well 용으로 전용 실험 배지를 사용합니다.
- Wave 및 디자인된 분석 템플릿을 엽니다. 준비가 되면 **Start Run** (실행 시작)을 클릭합니다.
- 메시지가 나타나면 로드된 센서 카트리지를 분석기에 놓고 **I'm Ready**(준비 완료)를 클릭합니다.
- 캘리브레이션이 끝나면 Wave에 "Load Cell Plate"(세포 플레이트 로드)가 표시됩니다. **Open Tray**(트레이 열림)를 클릭한 다음 유틸리티 플레이트를 세포 플레이트로 교체합니다.
- 세포 플레이트에서 리드를 제거했는지 확인한 다음 **Load Cell Plate**(세포 플레이트 로드)를 클릭하여 분석을 시작합니다.
- 옵션: Biotek 기기를 사용하여 분석 후 세포 보정(normalization)을 수행합니다.

주문 정보

| 설명 | 제품 번호 |
|--|------------|
| XF Long Chain Fatty Acid Oxidation Stress Test Kit | 103672-100 |
| XF Glucose/Pyruvate Oxidation Stress Test Kit | 103673-100 |
| XF Glutamine Oxidation Stress Test Kit | 103674-100 |
| Seahorse XF DMEM Medium, pH 7.4 | 103575-100 |
| Seahorse XF RPMI Medium, pH 7.4 | 103576-100 |
| Seahorse XF 1.0 M Glucose | 103577-100 |
| Seahorse XF 100mM Pyruvate | 103578-100 |
| Seahorse XF 200mM Glutamine | 103579-100 |

추가 정보

XF 기질 산화 스트레스 측정 키트 사용자 매뉴얼:

www.agilent.com/chem/subox-usermanual

Agilent XF Learning Center:

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

기술 지원:

cellanalysis.support@agilent.com

연구 용도로만 사용하십시오. 진단 용도로는 사용하지 않습니다.

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2020
2020년 1월 28일, 한국에서 인쇄
5994-1715KO

한국에젬린트 테크놀로지스(주)
대한민국 서울 특별시 서초구 강남대로 369,
A+ 에셋타워 9층, 06621
전화: 82-80-004-5090 (고객지원센터)
팩스: 82-2-3452-2451
이메일: korea-inquiry_lsca@agilent.com