

CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay

INSTRUCTIONS FOR USE OF PRODUCTS G9290, G9291 AND G9292.

CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay を利用したモデルプロトコルです。

最新のマニュアルについては英語版(TB359)をご覧ください

< CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay 試薬の調製 >

1. CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay キットの構成成分を 37°Cウォーターバス中で溶解する。溶解したら、数回、転倒混和し、試薬を混ぜる。
2. Assay Buffer 全量を AAF-Glo™ Substrate のボトルに移し、転倒混和を行い、よく混ぜる。これを CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay Reagent とする。

* option: プロトコルに合わせて、下記の試薬を調製します。

Lysis Reagent の調製 :

Digitonin(型番 G9290 と G9291 の場合は 33ul, G9292 の場合は 162ul)を Assay Buffer に加える(型番 G9290 と G9291 の場合は 5ml, G9292 の場合は 25ml)。転倒混和などでよく混ぜ、これを Lysis Reagent とする。

** CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay Reagent と Lysis Reagent は 4°C で 7 日間保存が可能です。

長期での保存の場合、CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay Reagent は、-70°C で 4 ヶ月保存が可能です。複数回の凍結融解は推奨しません。このため、-70°C で保存する場合には、使用量に合わせて小分けに分注して保存してください。

< CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay プロトコル(簡易モデルプロトコル) >

1. 細胞培養用の 96well 白プレートに、任意の細胞数にて 100uL で細胞を播種する。
2. 任意の期間培養する。また、化合物等の処理を行う。
3. CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay Reagent を準備する。凍結保存した試薬の場合には、室温に戻っていること、十分に溶解されている事を確認し、使用前にタッピング等で軽く混和する。
4. CytoTox-Glo™ Cytotoxicity Assay Reagent 50uL を各 well に添加する。
5. プレートシェーカーにてよく攪拌し、室温で 15 分インキュベーションする。
6. 発光測定を行う。
7. option : well 中のトータルの細胞の発光を測定する場合。

Lysis Reagent 50uL を各 well に添加する。

プレートシェーカーにてよく攪拌し、室温で 15 分インキュベーションし、発光測定を行う。

(補足情報)

- ・アッセイを実施する前に、測定できる細胞数の予備検討を推奨します。
- ・上記の 6. と 7. で求めた発光値から、生存細胞の発光シグナルを算出することも可能です。生細胞のシグナルの算出方法は下記になります。

Viable cell luminescence = Total luminescence(7.で測定したシグナル) – Experimental dead cell luminescence (6.で測定したシグナル)

- ・発光シグナルは 15 分から 1 時間内にプラトーとなり、最大 5 時間まで測定が可能です。