

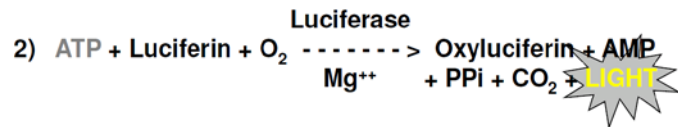
ToxiLight™ BioAssay Kit

Der ToxiLight™ BioAssay Kit ist ein nicht-destruktiver Cytolyse Assay Kit auf Biolumineszenz-Basis, der zur Messung der Freisetzung von Adenylatkinase (AK) aus geschädigten Zellen entwickelt wurde

Prinzip

Adenylatkinase ist ein robustes Enzym, das in allen eukaryotischen Zellen vorkommt und das ins Zellkulturmedium entlassen wird, wenn die Zelle abstirbt. Das Enzym phosphoryliert ADP zu ATP. Die Menge des so entstandenen ATPs kann mithilfe der Firefly Luciferase Reaktion bestimmt werden. Mit zunehmender Zytolyse erhöht sich die Menge der Adenylatkinase im Überstand, was zu einer stärkeren Lichtemission des ToxiLight™ Reagenz führt.

Two step reaction



Da das ToxiLight™ BioAssay Kit die Tatsache ausnutzt, dass die Adenylatkinase aus sterbenden Zellen freigesetzt wird, gibt es keine Notwendigkeit eine Zell-Lyse durchzuführen (im Gegensatz zu vielen anderen Zytotoxizitätsassays). Über eine wiederholte Probenentnahme aus dem Kulturüberstand kann so einfach eine kinetische Analyse des Zelltods durchgeführt werden

Das ToxiLight™ BioAssay Kit erleichtert auch das High Content Screening, da es die Durchführung weiterer Tests an der originalen Kultur erlaubt.

Alle für den Adenylatkinasenachweis nötigen Komponenten sind in einem einzigen Reagenz enthalten, so dass die Testdurchführung sehr einfach ist.

Zusammengefasst:



Hoch Sensitiv – Das ToxiLight™ BioAssay Kit nutzt die zyklische Natur der AK-Reaktion, in der eine geringe Menge Enzym eine hohe Konzentration an ATP generieren kann. Dies ermöglicht die Detektion von sehr subtilen Veränderungen der Zytotoxizität und reduziert so falsch negative Ergebnisse.

Nicht-destruktiv – Der ToxiLight™ Assay detektiert die im Zellüberstand vorliegende Adenylatkinase, wodurch die Notwendigkeit entfällt die Zellen vor Durchführung des Assays zu lysieren. D.h. es können mehrere Tests an derselben Probe durchgeführt werden.

Einfach – Der Assay erfordert nur die Zugabe eines einzigen Reagenz, das direkt in die Wells gegeben werden kann, in denen die Zellen wachsen oder zu einer kleinen aus dem Kulturüberstand entnommenen Probe.

Schnell – Signale können schon 5-10 Minuten nach Zugabe des ToxiLight™ BioAssay Reagenz ausgelesen werden.

Flexibel – Zellüberstände können ohne Verlust der AK-Aktivität für Langzeit-Kinetik-Studien eingefroren werden.

Sicher – Es werden keine gefährlichen Chemikalien benötigt.

ToxiLight™ 100% Lysis Reagent Set. (Einzeln erhältlich)

Das ToxiLight™ 100% Lysis Reagent Set ist für die Verwendung mit ToxiLight™ Bio-Assay bestimmt und liefert dem Benutzer eine 100% Lyse oder Adenylatkinase Kontrolle. Es enthält das 100% Lysis Reagent (10 ml) und Tris-Acetate Buffer (50 ml, nötig für die Volumenkorrektur der Proben-Wells) und ist ausreichend für 200 Tests im 96 Well Format.

Einfach das 100% Lysis Reagent den Kontroll-Wells in einem Verhältnis von 1:2 (Lyse-Reagenz / Probenvolumen) hinzufügen, das Volumen der restlichen Probenaschen mit Tris-Acetate-Puffer korrigieren und bei Raumtemperatur für 10 Minuten inkubieren. Das ToxiLight™ 100% Lysis Reagent sollte als Kontrolle zu jedem Zeitpunkt im Zytotoxizitätsassay einbezogen werden. Nach Zugabe mit dem Standard ToxiLight™ Assay-Protokoll weiter verfahren.