

REAGENTS FOR CELL LYSING, PERMEABILIZING AND DNA STAINING FOR ANALYSIS ON FLOW CYTOMETERS

FOR RESEARCH USE ONLY.
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.

PRODUCT DESCRIPTION

COULTER DNA-Prep Reagents Kit is used in the preparation of intact cells and isolated cell nuclei for the quantitative measurement of cellular deoxyribonucleic acid (DNA) content by flow cytometry. The measurement is based upon the ability of propidium iodide to bind stoichiometrically to double stranded DNA under appropriate staining conditions. DNA stained in this manner will emit fluorescence in direct proportion to their DNA content. The flow cytometer measures the fluorescence from each stained cell as it passes through the laser beam. Flow cytometric analysis provides quantitative data and the ability to measure large numbers of cells rapidly.

REAGENTS CONTAINED IN KIT

COULTER DNA-Prep Reagents Kit,
PN 6607055 (100 tests)
DNA-Prep LPR, 1 x 22 mL vial
DNA-Prep Stain, 3 x 70 mL vials

REAGENT CONTENTS

DNA-Prep LPR contains <0.1% potassium cyanide, <0.1% NaN₃, nonionic detergents, saline and stabilizers.

DNA-Prep Stain contains 50 µg/mL propidium iodide (<0.5% propidium iodide), RNase [Type III-A, Bovine Pancrease (4 KU/mL)], <0.1% NaN₃, saline and stabilizers.

FLUORESCENCE

Propidium iodide - Excites at 488 nm
Emits at 560-680 nm

STATEMENT OF WARNINGS

1. The stain reagent contains propidium iodide. Propidium iodide is a mutagenic agent and a suspected carcinogen and should be handled with caution. Liquid impervious gloves should be worn whenever handling this reagent.
2. The lysing reagent contains potassium cyanide. Contact of this reagent with acid may liberate poisonous gas. Avoid contact with acid.
3. These reagents contain sodium azide. Sodium azide under acidic conditions yields hydrazoic acid, an extremely toxic compound. Azide compounds should be flushed with running water while being discarded. These precautions are recommended to avoid deposits in metal piping in which explosive conditions can develop. If skin or eye contact occurs, immediately wash excessively with water.
4. Specimens, samples, and all material coming in contact with them should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions.
5. Never pipet by mouth and avoid contact of samples with skin and mucous membranes.
6. Do not use reagents beyond the expiration date on the vial labels.
7. Minimize exposure of reagent to light during storage or incubation.
8. Avoid microbial contamination of reagents to avoid incorrect or misleading results.
9. The flow cytometer must be prepared and maintained according to the Product Manuals. Verify alignment using 10 µm fluorospheres (Flow-Check™ Fluorospheres). Half-peak CV must be less than 2% for red fluorescence.
10. Use Good Laboratory Practices (GLP) when handling these reagents.

STORAGE CONDITIONS AND STABILITY

These reagents are stable to the expiration date on the vial labels when stored unopened at 2-8°C. These reagents should be brought to a temperature of 20-25°C prior to use. Do not freeze. Minimize exposure to light. Opened bottles remain stable for 60 days when stored at 20-25°C.

EVIDENCE OF DETERIORATION

Any change in the physical appearance of these reagents or any major variation in values obtained for control samples may indicate deterioration and these reagents should not be used.

Normal Appearance of the Reagents:

LPR - clear, light-brown liquid
Stain - clear, pinkish-red liquid

REAGENT PREPARATION

No preparation is necessary. These COULTER DNA-Prep Reagents are used directly from their vials.

USAGE

These reagents are for use with standard flow cytometry methodologies using the COULTER DNA-Prep Workstation.

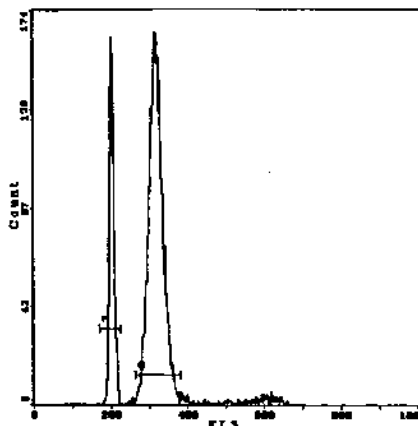


Figure 1. Single parameter histogram of COULTER INDEX DNA Abnormal Control (PN 6699500) stained with COULTER DNA-Prep Reagents Kit and acquired on an Epics® XL-MCL.

SELECTED REFERENCES

1. Crissman HA and Steinkamp JA. 1973. Rapid, simultaneous measurement of DNA, protein, and cell volume in single cells from large mammalian cell populations. *J Cell Biology* 59:766-771.
2. Vindelov LL, Christensen IJ and Nissen NI. 1983. Standardization of high-resolution flow cytometric DNA analysis by the simultaneous use of chicken and trout red blood cells as internal reference standards. *Cytometry* 3:328-331.
3. Shapiro HM: 1995. *Practical Flow Cytometry. Extrinsic Parameters*. Third Edition, New York: Wiley-Liss, p. 251-262.
4. Hedley DW, Shankey TV and Wheelless LL. 1993. DNA Cytometry Consensus Conference. *Cytometry* 14:471-500.

PRODUCT AVAILABILITY

COULTER DNA-Prep Reagents Kit
PN 6607055 (100 tests)

For additional information in the US, call 800-526-7694.
Outside the US, call your local Coulter Representative.

TRADEMARKS

COULTER, EPICS and Flow-Check are trademarks of Beckman Coulter, Inc.

Coulter Corporation
A Beckman Coulter Company
11800 SW 147 Avenue
Miami, Florida 33196-2500 USA
www.beckmancoulter.com

Copyright © Beckman Coulter, Inc.
1996, 1999
All Rights Reserved.



REAGENTES PARA LISE CELULAR, PERMEABILIZAÇÃO E COLORAÇÃO DO DNA PARA ANÁLISE EM CITÔMETROS DE FLUXO

APENAS PARA INVESTIGAÇÃO.
NÃO UTILIZAR EM DIAGNÓSTICO.

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O Kit de Reagentes COULTER DNA-Prep é utilizado na preparação de células intactas e de núcleos isolados de células para a medição quantitativa do conteúdo de ácido desoxirribonucleico (DNA) através da citometria de fluxo. A medida baseia-se na capacidade que o iodeto de propídio tem de se ligar estequiometricamente ao DNA de cadeia dupla, nas condições adequadas de coloração. O DNA corado desta forma emitirá fluorescência na proporção direta ao seu conteúdo em DNA. O citômetro de fluxo mede a fluorescência de cada célula corada, quando ela passa pelo feixe de laser. A análise por citometria de fluxo fornece dados quantitativos e tem a capacidade de analisar rapidamente grandes quantidades de células.

REAGENTES CONTIDOS NO KIT

Kit de Reagentes COULTER DNA-Prep
NP 6607055 100 testes
DNA-Prep LPR, 1 frasco de 22 ml
Corante DNA-Prep, 3 recipientes de 70 ml

CONSTITUIÇÃO DOS REAGENTES

O DNA-Prep LPR contém cianeto de potássio a <0,1%, NaN₃ a <0,1%, detergentes não iônicos, solução salina e estabilizantes.

O Corante DNA-Prep contém 50 µg/ml de iodeto de propídio (iodeto de propídio a <0,05%), RNase [Tipo III-A, Pancrease Bovina (4 KU/ml)], NaN₃ a <0,01%, solução salina e estabilizantes.

FLUORESCÊNCIA

Iodeto de propídio - Excita em 488 nm
Emite em 560-680 nm

ADVERTÊNCIAS

1. O reagente para coloração contém iodeto de propídio. O iodeto de propídio é um agente mutagênico e suspeita-se que possa ser carcinogênico, devendo ser manipulado com precaução. Devem ser utilizadas luvas impermeáveis sempre que este reagente for manipulado.
2. O reagente de lise contém cianeto de potássio. O contacto deste reagente com ácidos pode libertar gás tóxico. Evite contacto com ácidos.
3. Estes reagentes contêm azida de sódio. A azida de sódio a pH ácido origina ácido hidrazóico, um composto extremamente tóxico. Os compostos de azida devem ser lavados com água corrente quando forem eliminados. Estas precauções destinam-se a evitar depósitos na canalização metálica que podem causar explosões. Se ocorrer contacto com a pele ou os olhos, lave abundantemente com água imediatamente.
4. Amostras e qualquer material que entre em contacto com elas deve ser manuseado como se fosse capaz de transmitir infecção e deve ser descartado obedecendo às precauções apropriadas.
5. Nunca pipete com a boca e evite o contacto das amostras com a pele e as mucosas.
6. Não utilize os reagentes para além do prazo de validade mencionado nos rótulos dos recipientes.
7. Minimize a exposição do reagente à luz durante o armazenamento e a incubação.
8. Evite a contaminação microbiana dos reagentes que pode causar resultados falsos.
9. O citômetro de fluxo deve ser preparado e mantido de acordo com os Manuais do Produto. Verifique o alinhamento com o utilização de fluorosferas de 10 µm (Flow-CHECK™ Fluorospheres). O CV de meio-pico deve ser inferior a 2% para a fluorescência vermelha.
10. Respeite as Boas Práticas de Laboratório ao manusear estes reagentes.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Estes reagentes são estáveis durante o prazo de validade mencionado nos rótulos dos recipientes quando armazenados fechados entre 2 e 8°C. Estes reagentes devem atingir uma temperatura entre 20 e 25°C antes da sua utilização. Não congele. Minimize a exposição à luz. Os recipientes abertos permanecem estáveis durante 60 dias quando armazenados entre 20 e 25°C.

DEGRADAÇÃO

Qualquer alteração nas características físicas destes reagentes ou qualquer variação importante nos valores obtidos para amostras de controle pode indicar degradação e como tal estes reagentes não devem ser utilizados.

Aparência Normal dos Reagentes:

LPR - líquido transparente, castanho claro

Corante - líquido transparente, rosado a vermelho.

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Não é necessária nenhuma reconstituição. Estes Reagentes COULTER DNA-Prep são utilizados diretamente do recipiente.

UTILIZAÇÃO

Estes reagentes são concebidos para serem utilizados com metodologias padrão de citometria de fluxo e utilização do COULTER DNA-Prep Workstation.

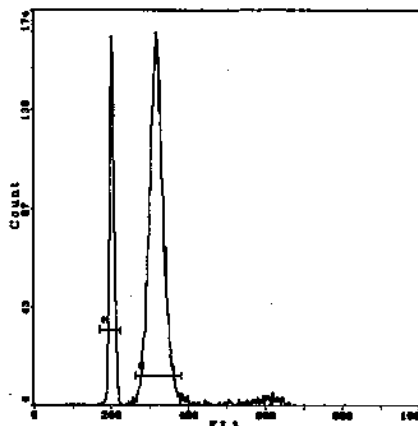


Figura 1. Histograma de parâmetro único de Controle Anormal de DNA COULTER INDEX (NP 669500) corado com o Kit de Reagentes COULTER DNA-Prep e adquirido num Epics® XL-MCL.

REFERÊNCIAS SELECIONADAS

1. Crissman HA and Steinkamp JA. 1973. Rapid, simultaneous measurement of DNA, protein, and cell volume in single cells from large mammalian cell populations. *J Cell Biology* 59:766-771.
2. Vindelov LL, Christensen IJ and Nissen NI. 1983. Standardization of high-resolution flow cytometric DNA analysis by the simultaneous use of chicken and trout red blood cells as internal reference standards. *Cytometry* 3:328-331.
3. Shapiro HM: 1995. *Practical Flow Cytometry. Extrinsic Parameters*. Third Edition, New York: Wiley-Liss, p. 251-262.
4. Hedley DW, Shankey TV and Wheelless LL. 1993. DNA Cytometry Consensus Conference. *Cytometry* 14:471-500.

DISPONIBILIDADE DO PRODUTO

Kit de Reagentes COULTER DNA-Prep
NP 6607055 (100 testes)

Para obter informações adicionais nos EUA, telefone para 800-526-7694.
Fora dos EUA, contacte o representante local da Coulter.

MARCAS REGISTRADAS

COULTER, EPICS e FLOW-CHECK são marcas registradas da Beckman Coulter, Inc.

Coulter Corporation
Uma Companhia Beckman Coulter
11800 SW 147 Avenue
Miami, Florida 33196-2500 EUA
www.beckmancoulter.com

Este produto é registrado junto do Ministério da Saúde Portuguesa pelo Decreto-Lei 306/97.

Copyright © Beckman Coulter, Inc.
1996, 1999

Todos os Direitos Reservados.

