

# APPLICATION INSTRUCTIONS FOR “BIOREE” BIOLOGICAL SAMPLE STAINING KIT IN PREPARATION FOR SCANNING ELECTRON MICROSCOPY EXAMINATION

## 1. PURPOSE

1.1. “BioREE” reagent kit is designed for the preparation of biological samples for scanning electron microscopy examination.

## 2. KIT SPECIFICATIONS AND FUNCTIONING PRINCIPLE

2.1. Kit contents:

①	“1 – liquid for initial rinsing” (rinsing solution, labelled red) – 1 vial, 5 mL
②	“2 – contrasting by $\text{NdCl}_3+\text{NaCl}$ ” (first contrast agent solution, labelled yellow) – 1 vial, 2 mL
③	“3 – liquid for final rinsing” (final rinsing solution, labelled green) – 1 vial, 5 mL

2.2. “BioREE” kit is designed for simultaneous preparation of two samples.  
NOTE: if necessary, the kit may be split into two independent parts.

2.3. Kit functioning principle:

The initial rinsing removes the components of growth mediums and the liquids of tissue ground substances sorbed on the surface of the sample. The following soaking in the rare earth element solution leads to elective accumulation of the REE on cell membranes. The rinsing removes surpluses of the contrasting agent.

## 3. SAFETY PRECAUTIONS

3.1. All the components of the kit are non-toxic in used concentrations.

## 4. EQUIPMENT AND MATERIALS NECESSARY FOR USING THE KIT:

- receptacles for sample steeping in solutions;
- forceps for carrying the samples;
- a dropper capable of picking up to 2 mL of liquid volume for carrying the solutions to the staining container;

LLC “GLAUCON”, INN: 7722708109, OGRN: 1107746061114  
Correspondence address:  
Office 534, 11A Rossolimo str., Moscow, Russia, 119021

According to the patent application  
RU 2672356 C1.

[www.bioree.ru](http://www.bioree.ru)

- shaking machine capable of succussion with 3–4 mm amplitude at 4–8 Hz frequency at +37°C temperature (preferably);
- scanning electron microscope capable of detecting back-scattered electrons (BSE) is required for registering the results of staining.

## 5. PREPARING REAGENTS FOR THE ANALYSIS

5.1. Reagents must be soaked for 20 minutes at room temperature and then thoroughly mixed upturning every vial.

## 6. ANALYSIS PROCEDURE

6.1. Prepare appropriate amount of reagents depending on the number of samples being examined.

6.2. Put “1 – liquid for initial rinsing” into the first plate well. If the sample is adhered inside a container, it is possible to perform sample preparation by sequentially changing solutions in the container.

6.3. Carefully rinse the sample for 1–2 minutes.

6.4. Move the sample into the second plate well (container) and fill it with “2 – contrasting by  $\text{NdCl}_3 + \text{NaCl}$ ” agent.

6.5. Incubate the sample for 30 minutes at 37°C, preferably with succussion.

6.6. Move the sample into the third plate well (container) and fill it with “3 – liquid for final rinsing” solution.

6.7. Carefully rinse the sample.

6.8. Remove the surpluses of moisture.

6.9. Place the sample on the microscope stage. If examination cannot be carried out immediately, transportation and short-term storage of dried at RT samples are acceptable.

## 7. KIT STORAGE AND APPLICATION CONDITIONS

7.1. “BioREE-B” kit must be stored at +2° to +8°C temperature. Storage period is 2 months. Transportation and short-term storage at RT are acceptable.

7.2. Date of manufacture: \_\_\_\_\_

Number of kits: \_\_\_\_\_

# ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА «BioREE» ДЛЯ КОНТРАСТИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ ПЕРЕД ИССЛЕДОВАНИЕМ НА СКАНИРУЮЩЕМ ЭЛЕКТРОНОМ МИКРОСКОПЕ

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реактивов «BioREE» предназначен для подготовки биологических образцов к исследованию методом сканирующей электронной микроскопии.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1. Состав набора:

①	«1 – жидкость для первичной промывки» (промывочный раствор, маркирован красным) – 1 ампула, объем 5 мл
②	«2 – контраст на основе $NdCl_3+NaCl$ » (раствор первого контрастирующего вещества, маркирован желтым) – 1 ампула, объем 2 мл
③	«3 – жидкость для финальной промывки» (раствор для финальной промывки образца, маркирован зеленым) – 1 ампула, объем 5 мл

2.2. Набор «BioREE» предназначен для одновременной подготовки двух образцов. ПРИМЕЧАНИЕ: при необходимости комплект можно разделить на две независимые части.

2.3. Принцип работы набора:

При первой промывке удаляются компоненты ростовых сред и жидкости основного вещества ткани, сорбировавшейся на поверхности образца. Последующая выдержка в растворе редкоземельного элемента приводит к его избирательному накоплению на мембранных клеточных структурах. Промывка удаляет излишки контрастирующего вещества.

## 3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

ООО "ГЛАУКОН", ИНН:7722708109, ОГРН: 1107746061114, адрес для корреспонденции: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, корпус А, кабинет 534.

С разрешения ФГБНУ "НИИГБ", согласно патенту на изобретение RU 2 578 977 с приоритетом от 12.05.2015.

[www.bioree.ru](http://www.bioree.ru)

#### 4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ:

- емкости для размещения образцов в растворах;
- пинцет для переноса образцов;
- пипетка, позволяющая отбирать объемы жидкости до 2 мл, для переноса растворов в емкости для окрашивания;
- прибор для встряхивания (шейкер), позволяющий производить встряхивание с амплитудой колебания 3–4 мм и частотой 4–8 Гц при температуре +37°C (желательно);
- для регистрации результата окрашивания необходим сканирующий электронный микроскоп с возможностью детекции вторично-рассеянных электронов (BSE-детектор).

#### 5. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА

5.1. Реагенты выдержать в течение 20 мин при комнатной температуре, тщательно перемешать, переворачивая каждую ампулу.

#### 6. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1. В зависимости от количества определяемых образцов подготовить соответствующее количество реагентов.

6.2. Внести в первую лунку планшета реактив «1 – жидкость для первичной промывки». Если образец адгезирован внутри емкости, то возможно проводить пробоподготовку путем последовательной смены растворов в этой емкости.

6.3. Тщательно промыть образец в течение 1–2 мин.

6.4. Перенести образец во вторую емкость и залить реактивом «2 – контраст на основе  $\text{NdCl}_3 + \text{NaCl}$ ».

6.5. Инкубировать образец 30 мин при температуре 37°C, желательно со встряхиванием.

6.6. Перенести образец в третью емкость с реактивом «3 – жидкость для финальной промывки».

6.7. Тщательно промыть образец.

6.8. Удалить излишки влаги.

6.9. Расположить образец на предметном столике микроскопа. Если исследование невозможно провести незамедлительно, то возможно кратковременное хранение или транспортировка образца, подсушенного естественным образом.

#### 7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

7.1. Набор «BioREE» должен храниться при температуре от +2 до +8°C. Срок хранения набора: 2 месяца. Допустима транспортировка и кратковременное хранение при комнатной температуре.

7.2. Дата изготовления: \_\_\_\_\_

Количество комплектов: \_\_\_\_\_