

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

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реактивов «BioREE-B» 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 предварительной промывки» (маркирован красным) – 1 ампула, объем 5 мл
②	«2 – контраст на основе $\text{NdCl}_3$ » (первый контрастирующий раствор, маркирован желтым) – 1 ампула, объем 2 мл
③	«3 – жидкость для промежуточной промывки» (маркирован зеленым) – 1 ампула, объем 5 мл
④	«4 – контраст на основе $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ » (второй контрастирующий раствор, маркирован фиолетовым) – 1 ампула, объем 2 мл
⑤	«5 – жидкость для разведения концентрата для фиксации» (маркирован оранжевым) – 1 ампула, объем 4,5 мл
⑥	«6 – концентрат для фиксации» (раствор для долговременной фиксации образца, маркирован черным) – 1 ампула, объем 0,5 мл
⑦	«7 – жидкость для финальной промывки» (маркирован синим) – 1 ампула, объем 5 мл

2.2. Набор «BioREE-B» предназначен для одновременной подготовки двух образцов

размерами не более  $3 \text{ мм}^3$  или на носителе не более  $10 \text{ см}^2$ .

### 2.3. Принцип работы набора:

При предварительной 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. Промежуточная промывка удаляет излишки первого контрастирующего вещества. Второй контрастирующий раствор накапливается в зонах, где присутствуют легко окисляющиеся органические соединения, и замещает неодим в простых неорганических соединениях. Следующая промывка удаляет излишки второго контрастирующего вещества. При необходимости долговременного хранения образца или работе с патогенными организмами применяется раствор для фиксации.

## 3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1. Все компоненты набора, кроме раствора для долговременной фиксации, в используемых концентрациях являются нетоксичными.

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

- емкости для размещения образцов в растворах;

- пипетка, позволяющая отбирать объемы жидкости до 2 мл, для переноса растворов в емкости для окрашивания;
- 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. Внести в емкость с образцом реактив «1 – жидкость для предварительной промывки». Если образец адгезирован внутри емкости (например 2D клеточная культура на чашке Петри), то возможно проводить пробоподготовку путем последовательной смены растворов в этой емкости.

6.2. Тщательно промыть образец в течение 1–2 мин путем покачивания емкости и удалить жидкость.

6.3. Не допуская пересыхания образца, залить его реактивом «2 - контраст на основе  $\text{NdCl}_3$ »

6.4. Инкубировать образец 30 мин при комнатной температуре.

После этого этапа возможно хранение образца в герметично укуренной емкости при

температуре  $+4^\circ\text{C}$  на протяжении 7 дней (например при необходимости его транспортировки).

6.5. Удалить жидкость из емкости с образцом и внести в нее реактив «3 – жидкость для промежуточной промывки», оставив половину объема для выполнения следующей промывки.

6.6. Тщательно промыть образец путем покачивания емкости.

6.7. Удалить жидкость и залить образец реактивом «4 – контраст на основе  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ » и инкубировать 15 мин (для образцов, прикрепленных на подложках, рекомендуется погружение в раствор в перевернутом виде, не допуская соприкосновения поверхности образца с дном емкости).

6.8. Поместить образец в раствор реактива «3 – жидкость для промежуточной промывки» который остался неиспользованным после выполнения п.6.5.

6.9. Тщательно промыть образец в течение 0,5-1 мин. путем покачивания емкости

6.10. При необходимости длительного хранения образца или при работе с патогенными организмами образец следует зафиксировать. Для этого готовится раствор фиксатора путем смешивания реактива «5 – жидкость для разведения концентрата для фиксации» и реактива «6 – концентрат для фиксации». Полученным раствором заливается образец.

6.11. Поместить образец в раствор реактива в следующую емкость с реактивом «7 – жидкость для финальной промывки».

6.12. Промыть образец путем покачивания емкости в течение 5–10 сек.

6.13. Удалить излишки влаги.

6.14. 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-B» должен храниться при температуре от  $+4$  до  $+8^\circ\text{C}$ . Срок хранения набора: 12 месяцев. Допустима транспортировка и кратковременное хранение при комнатной температуре.

7.2. Дата изготовления: \_\_\_\_\_

Упаковщик: \_\_\_\_\_

**QC PASSED**

ООО «Глаукон»

Адрес: 115280, Город Москва, Улица Автозаводская, Дом 23а, корпус 2, пом 513, ком 1  
 E-mail: [info@bioree.ru](mailto:info@bioree.ru)  
[bioree.ru](http://bioree.ru)