

## TRYPAN BLUE

### USO DO AZUL DE TRYPAN (Sigma pp. 1885)

Nota: Azul de Trypan tem uma afinidade maior por proteínas do soro do que por proteínas celulares. Se o "background" for muito escuro, as células devem ser ressuspensas em meio ou sal livre proteínas antes da contagem.

- 1) Preparar a suspensão celular em uma solução de sais balanceada.
- 2) Transferir 0,5 ml da solução 0,4% de Azul de Trypan (w/v) para um eppendorf. Adicione 0,3 ml de HBSS (PBS ou salina) e 0,2 ml da suspensão celular (fator de diluição = 5) e misture completamente. Deixe de repouso por 5 a 15 minutos.
- 3) Pipetar em câmara de Neubauer. Manter um contagem separada para células viáveis e não viáveis. AS CÉLULAS NÃO VIÁVEIS FICAM CORRADAS DE AZUL.

CÉLULAS POR ml = total de contadas X fator de diluição X  $10^4$

VIABILIDADE CELULAR (%) = total de células viáveis (não coradas) ÷ total de células (coradas e não coradas) X 100

	/ /00		/ /00		/ /00		/ /00	
	V	NV	V	NV	V	NV	V	NV
N <sub>2</sub> líquido								
Glicerol 7,5%								
Glicerol 25%								

V= viável  
 NV= não viável

	/ /00		/ /00		/ /00		/ /00	
	V	NV	V	NV	V	NV	V	NV
N <sub>2</sub> líquido								
Glicerol 7,5%								
Glicerol 25%								

V= viável  
 NV= não viável

	/ /00		/ /00		/ /00		/ /00	
	V	NV	V	NV	V	NV	V	NV
N <sub>2</sub> líquido								
Glicerol 7,5%								
Glicerol 25%								

V= viável  
 NV= não viável