

PreMix WST-1 Cell Proliferation Assay System

ELISA Reader를 이용한 세포증식 및 생존능력 측정 시약

TaKaRa Code MK400 2,500회 (25 ml x 1 bottle of PreMix WST-1)

- ELISA Reader를 이용한 세포 증식 및 생존능력 측정
- 동위원소, 유기용매를 사용하지 않아 안전
- 멸균 처리된 Premix type으로 바로 사용이 가능
- Washing 단계 및 부가적인 시약이 불필요

세포증식 및 생존능력을 측정하기 위해서 여러가지 tetrazolium salts(MTT, XTT, MTS 등)를 이용한 방법이 사용되고 있다. 대사적으로 왕성한 활동을 하고 있는 세포는 미토콘드리아의 전자전달계 (Respiratory chain) 과정을 통하여 생존에 필요한 에너지를 생산한다. 본 kit는 전자전달계에 존재하는 탈수소효소 (Dehydrogenase)인 succinate-tetrazolium Reductase (EC 1.3.99.1)가 Tetrazolium Salts (WST-1)를 분해하여 formazan이라는 발색 물질을 생성하는 원리(그림 1)를 적용하고 있어 살아있는 세포에서만 효과를 나타낸다. 따라서 formazan에 의한 발색 강도 증감은 살아있는 세포 수와 직선적인 상관관계가 있다는 것을 의미한다.

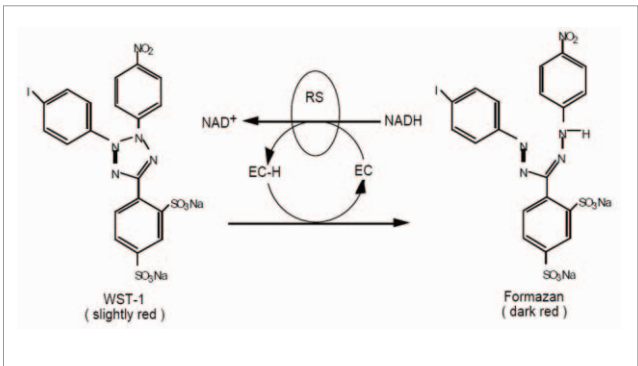


그림 1. Cleavage of tetrazolium salt (WST-1) to formazan. (EC = electron coupling reagent, RS = mitochondrial succinate-tetrazolium reductase system)

[적용분야]

- Growth factors, cytokines, mitogens, nutrients에 반응하는 세포증식 능력의 측정 (그림 2)
- 항암제나 다른 약제에 대한 세포독성 측정 (그림 3)
- 성장저해 항체나 생체 mediators의 효능 평가

[특징]

- 안전성 (Safety) : 동위원소를 사용하지 않으며, 시약을 녹이기 위한 유기 용매를 사용하지 않는다.
- 정확성 (Accuracy) : 흡광도와 생존세포 수는 직선적인 상관관계를 나타낸다.
- 민감도 (Sensitivity) : 동일계통의 기질인 MTT 보다 고감도의 결과를 보장하며, XTT와 동등 또는 그 이상의 감도를 보장

- 사용상의 편리성 (Ease of Use) : 멸균한 Premix 형태로 제공되어 바로 사용이 가능하며, 반응시간이 짧고 전체 과정을 하나의 microtiter plate에서 수행할 수 있으며, washing, harvesting, solubilization 과정이 필요 없다. Multiwell ELISA reader를 사용하여 많은 샘플을 동시에 측정할 수 있다.
- 유연성 (Flexibility) : 동일한 Plate 상에서 반응시간을 바꾸어 반복 측정하는 것이 가능하다.

[제품용량]

- 2,500회 (25 ml x 1 bottle of PreMix WST-1)
- PreMix WST-1은 WST-1과 electron coupling 시약을 멸균된 Phosphate buffered saline (PBS)으로 희석하여 바로 사용이 가능한 형태이다. Premix WST-1을 100µl/well의 경우에는 10µl의 premix WST-1을 첨가하는 것이 좋다(10:1). 100 µl/well 로 배양하는 경우 본 제품 1 bottle로 2,500회 (25 microplate)를 수행할 수 있다.

[보관]

- -20℃ (protected from light)

[측정 파장]

- 420-480 nm (최대파장은 약 440 nm)

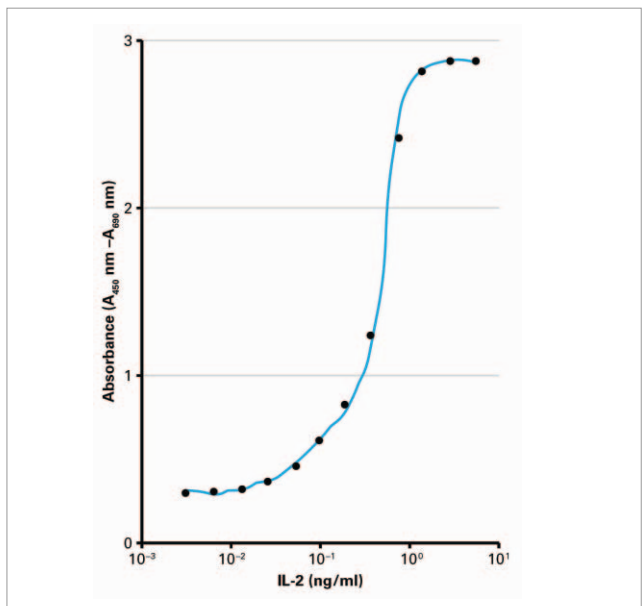


그림 2. Determination of the activity of Human interleukin-2 (IL-2) on the mouse T cell line CTLL-2. Mouse CTLL-2T Cells were seeded in 96 well microtiter plates (tissue culture grade, 96 wells, flat bottom) at a concentration of 4x10³ cells/well, with 100 ul of culture medium containing various amounts of IL-2 (final concentration e.g. 0.005-10 ng/ml). Incubate cells for 48 hrs at 37℃ and 5%, and then 10 ul/well PreMix WST-1 was added. After an additional incubation for 4 hrs under the same condition, A₄₅₀ was measured in a multiwell plate reader.

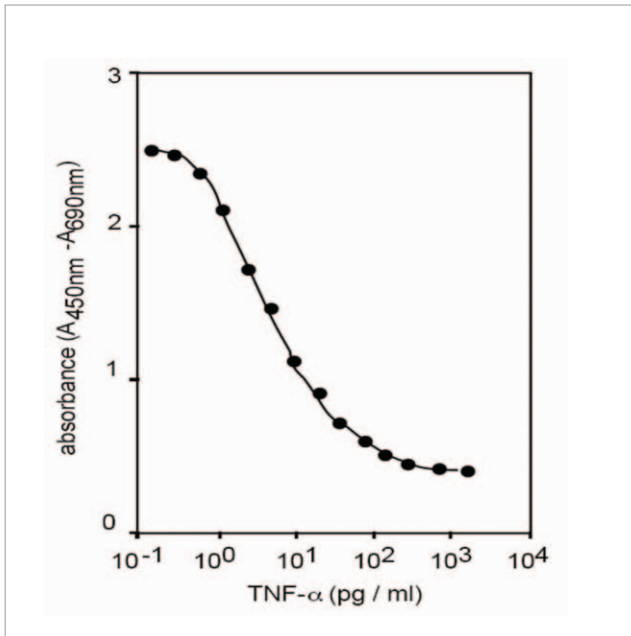


그림 3. Measurement of cytotoxic activity of human TNF- α to WEHI-164 cells. Mouse fibrosarcoma cell line WEHI-164 cells were preincubated at a concentration of 1×10^6 cells/ml in culture medium with actinomycin C1 for 3 hrs at 37°C and 5% CO₂. Cells were seeded at a concentration of 5×10^4 cells/well in 100 μ l culture medium containing actinomycin C1 and various amounts of TNF- α into microtiter plate. After incubation for 24 hrs at 37°C and 5% CO₂, 10 μ l/well PreMix WST-1 was added and then cells were incubated an additional 4 hrs under the same conditions. The absorbance was measured at A₄₅₀ in a multiwell plate reader.

[관련제품]

1. LDH Cytotoxicity Detection Kit MK401 2,000회

- 세포 내 LDH (Lactose dehydrogenase)는 세포막을 통과할 수 없지만, 세포 손상이 일어나면 배지 중으로 방출이 된다. LDH는 lactic acid의 탈수소화를 촉매하여 pyruvate와 NADH를 생성한다. 이 때 생성되는 NADH는 diaphorase가 Tetrazolium Salts (INT)를 formazan 색으로 환원시키는 과정에 역할을 수행한다. 따라서 LDH의 활성을 측정하므로써 세포 손상을 고감도로 측정할 수 있는 kit 이다.
- ELISA Reader를 이용하여 490 nm에서 측정

2. ApopLadder Ex (Apoptotic DNA Fragments Extraction Kit) MK600 24회

- Apoptosis가 일어나면 chromatin DNA의 nucleosome 단위 (185 bp)로 단편화가 일어나는데, 본 kit는 단편화된 DNA를 intact chromatin의 혼입을 최소한으로 억제하여 고감도의 ladder를 검출할 수 있도록 구성이 되어 있다.
- DNA 단편을 전기영동하여 검출

3. DNA-IdU Labeling and Detection Kit MK420 960회

- Thymin의 analog인 5-Iodo-2'-deoxyuridine (IdU)를 labeling 시약으로 사용하여 DNA 합성량을 지표로 세포증식을 측정하는 kit.
- Anti-IdU monoclonal 항체 및 2차 항체를 사용하여 ELISA Reader를 이용하여 발색 검출
- *In vivo* labeling도 가능

4. *In situ* Apoptosis Detction Kit MK500 20회

- Apoptosis를 일으키는 세포 특징 중 하나인 단편화된 chromatin DNA를 말단 표식법인 TUNEL (TdT-mediated Dntp-biotin nick and labeling)에 의해 apoptosis를 조직화학적 방법으로 검출하는 kit.
- 단편화된 3'-OH를 fluorescein-dUTP로 표식하여 형광현미경 또는 flow cytometer로 검출
- Peroxidase labeled anti-fluorescein Ab를 이용하여 광학현미경으로 관찰 가능