

Dyne WST-8 Cell Viability Assay Kit

(GBW-1000/2500/5000/10000, 1000/2500/5000/10000 tests, Store at 4 °C)

개요

Dyne WST-8 Cell Viability Assay Kit는 살아있는 세포를 colorimetric method로 확인할 수 있는 제품입니다. 본 제품에 사용된 WST-8은 Water soluble formazan을 생성합니다. 제품에 사용된 수용성 tetrazolium으로 생성하는 formazan은 반응 후 별도의 처리없이 바로 450 nm 영역대에서 측정이 가능하며, 세포에 바로 처리가 가능해 별도의 처리나 준비 단계가 필요하지 않습니다. 본 제품은 기존 사용하는 방식인 MTT, XTT, MTS, WST-1 보다 높은 감도를 보이며 낮은 독성과 높은 안정성으로 오래 시간 배양하는 실험에도 적용이 가능합니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Cat No.	Components	Size	Storage
GBW-1000	1000 tests	5 ml X 2	4 °C
GBW-2500	2500 tests	5 ml X 5	4 °C
GBW-5000	5000 tests	25 ml X 2	4 °C
GBW-10000	10000 tests	25 ml X 4	4 °C

▶ 제품은 빛을 차단한 상태에서 냉장 보관 시, 약 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- 1) 8 또는 12 채널 마이크로 피펫
- 2) Sterile pipette tips
- 3) CO₂ incubator (37 °C)
- 4) 96-well plate (Clear, Flat bottom)
- 5) Microplate reader (450 nm filter)

실험 프로토콜

1) Background control

실험에 사용되는 세포 배양 배지 100 μ l와 Dyne WST-8 Solution 10 μ l를 반응시켜, background 값으로 측정합니다.

2) General Assay

- a. 배양한 세포를 배지에 풀어 현탁액($5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ cells/ml density)을 준비합니다.
- b. 96-well plate에 준비한 세포 현탁액을 100 μ l($5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ cells/well) 분주합니다.
- c. CO₂ 세포배양기에서 24~48시간 배양합니다.
- d. Dyne WST-8 Solution 10 μ l(Media volume의 10%)를 각 well에 처리 후 30분~4시간 CO₂ incubator에서 배양합니다.
- e. 반응 후, 흡광도를 측정하기 전 1분간 부드럽게 shaking 합니다.
- f. Microplate reader로 450 nm에서 측정합니다.

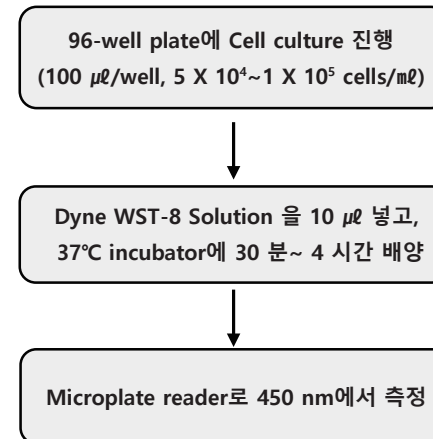
3) Cell proliferation & toxicity assay

- a. 100 μ l의 세포 현탁액($\sim 5 \times 10^3$ cells/well)을 96-well cell culture plate에 분주 후 CO₂ incubator에서 24 시간 배양합니다.
- b. 처리하고자 하는 물질을 다양한 농도로 10 μ l 분주합니다.
- c. 물질이 반응하는 시간 (e.g., 6, 12, 24, 48 hr) 적절히 나누어 배양합니다.
- d. Dyne WST-8 Solution 10 μ l(Media volume의 10%)를 각 well에 분주합니다.
- e. 30 분 ~ 4 시간 배양합니다.
- f. Microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정합니다.

4) Reference control (Optional)

600~650 nm에서 reference O.D. 값을 얻으실 수 있습니다. 이를 450 nm에서 빼게 되면 기본 탁도를 제거할 수 있습니다.

Quick assay Protocol (96-well plate 기준)



주의 사항

- 제품은 오직 실험 연구용으로만 사용이 가능합니다.
- 96-well plate format이 아닌 다른 크기의 배양 용기를 사용하시는 경우에는 cell medium의 1/10의 비율로 Dyne WST-8 Solution를 처리하시면 됩니다.
- 세포와 Dyne WST-8 Solution의 반응 시간은 세포의 종류, 농도 등에 따라 차이가 생기므로 예비 실험을 통해 세포의 수, 반응 시간을 최적화 하신 후 본 실험을 진행하십시오.
- Dyne WST-8 Solution 처리 후 흡광도 측정 시 bubble이 있으면 정확한 측정이 안될 수 있습니다. 측정 전 bubble을 제거해 주십시오.
- 세포에 처리되는 물질이 reducing agent를 포함하는 경우 WST-8과 반응하여 formazan을 형성할 수 있습니다. Reducing agent를 사용하실 경우 실험 전 흡광도를 측정해 확인하십시오. 만약 흡광도가 높게 나타나면 배양액을 제거하고 2-3차례 washing후 새로운 배양액으로 교체하여 실험하십시오.

Q&A

1) 최소량의 세포

부착세포의 경우 최소 1×10^3 cells이 well안에 들어있어야 하며, Leukocytes에 경우 2.5×10^3 cells이 well 안에 들어있어야 합니다. 이 이하의 세포를 사용할 경우 감도가 급격히 떨어질 수 있습니다.

2) Staining 목적으로 사용이 가능합니까?

이 제품은 Staining 목적으로 쓰일 수 없습니다.

3) Phenol red가 실험 결과에 영향을 줍니까?

Culture media에 쓰이는 Phenol red는 흡광도는 blank 값으로 제거가 가능합니다. 따라서, phenol red가 들어간 배지가 사용 가능합니다.

4) 450 nm filter 말고, 다른 영역대에서 측정이 가능합니까?

WST-8의 경우 430~490 nm에서 흡광을 측정할 수 있습니다. 하지만 450 nm가 가장 높은 감도를 보입니다.

5) Reducing agent의 대한 반응

Reducing agent는 WST-8과 반응합니다. 만약, 사용하는 배지에 reducing agent가 들어 있다면, 배지를 PBS나 reducing agent가 없는 배지로 한번 워싱하여 사용하십시오. 이 때, 부유셀에서는 사용할 수 없습니다.

6) Reference control이란?

탁도는 오염원 (박테리아나 fungi)과 관련이 있습니다. 만약 탁도가 높게 나왔다면 오염이 의심되기 때문에 실험을 다시 하는 것이 좋습니다.

Trouble-Shooting guide

1) O.D 값이 limit(2.0이상)를 초과하였습니다.

- a. 세포 양이 너무 많습니다.
- b. Incubation time이 너무 길니다.

2) 세포가 분명히 죽었는데 반응이 나올 경우

- a. WST-8이 테스트 물질에 의해 환원되었을 경우 발생합니다. 먼저 처리하는 물질과 WST-8이 반응하는지 확인하고, 반응 한다면 WST-8을 넣기 전에 세포를 한번 세척해 주십시오.
- b. 잔여 물질이 WST-8이나, PMS와 반응 할 수 있습니다. 이럴 경우 반드시 세척을 해주십시오.

3) 독성 있는 약물을 처리한 well이 처리를 하지 않은 well 보다 OD 값이 높을 경우

- a. 독성이 있는 물질이 낮은 농도로 투여될 경우, 세포의 활성을 높일 수 있습니다. 이 때 LD50가 결정된다면, 증가된 흡광도는 무시하십시오.

4) High variation

- a. Edge effect를 확인하십시오.
- b. Well에 잘 혼합이 되지 않을 경우 발생할 수 있습니다.
- c. Well 내부에 버블이 있을 수 있습니다.

5) No color or less color (pale orange)

- a. 정상적인 반응의 색은 노란색 또는 주황색입니다.
- b. 너무 세포의 수가 적은 경우, color가 나타나지 않을 수 있습니다. 세포수를 늘리십시오.
- c. 너무 세포의 수가 많은 경우, 주황색이었다가 색이 빠지거나 투명하게 보일 수 있습니다. 세포의 수를 줄이십시오.
- d. 본 실험을 하기전에 세포의 수를 여러 개로 하여 반응을 테스트 하기를 권장해 드립니다. 최적의 세포수를 가지고 실험했을 때 적절한 O.D 값은 0.5~1 (최대 1.5)사이입니다.

Related Product

- GBV-1000 Dyne Live/Dead Cell Staining Kit (Fluorometric) 1000 tests
- GBL-500/1000 Dyne LDH Cytotoxicity Assay Kit (Colotimetric) 500/1000 test
- GBL-P500/P1000 Dyne LDH PLUS Cytotoxicity assay kit 500/1000 test