

(주)영인프런티어

CellVia

Enhanced Cell Viability Assay Kit

Cat. No. LF-EZ1001
LF-EZ1001A

FOR RESEARCH USE ONLY.
NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC PROCEDURES.

□ Product Description

CellVia 는 WST 를 이용하여 살아있는 세포의 양을 측정하는 제품으로써 Cell Viability, Proliferation & Cytotoxicity Assay 등에 사용 할 수 있습니다. 본 제품의 기질인 WST 는 물에 잘 녹는 High Sensitive Water Soluble Tetrazolium Salt 로써 살아있는 세포의 Dehydrogenase 와 반응 하여 오렌지 색의 용성 formazan 을 생성합니다. WST 와 반응하는 Dehydrogenase 는 대사적으로 왕성한 활동을 하는 세포의 미토콘드리아 전자전달계에 존재하는 효소로써 살아있는 세포에만 유효합니다. 따라서 formazan 의 생성은 살아있는 세포 수와 직선 상관관계를 가지며, 이는 흡광도(450 nm)를 측정함으로써 알 수 있습니다.

CellVia 는 멸균처리 된 One Bottle Solution 으로 사용 전 준비단계 없이 사용가능하며, formazan 을 녹이는 과정이 불필요하고 배양액을 제거할 필요가 없어 Suspension cell 에 대해서도 간편하게 실험을 수행 할 수 있습니다.

□ Kit Contents

Catalog No.	Assay	Qty.
LF-EZ1001	1000 tests	5 ml x 2 bottle
LF-EZ1001A	3000 tests	5 ml x 6 bottle

□ Storage and Stability

0~4°C 냉장보관 하며, 제조일로부터 1 년간 활성의 변화 없이 사용 가능합니다.

-20°C 보관 시 2년 이상 사용이 가능하나 냉동-해동 반복 시 제품의 활성이 떨어지고 background가 증가할 수 있습니다. (권장하지 않습니다)

본 제품은 빛에 민감하므로 분주하여 보관하실 경우 빛의 차단이 가능한 용기 또는 알루미늄 호일로 덮은 용기에 보관하여 주시기 바랍니다.

□ Background Control

실험에 사용할 배양배지 100 μl 와 CellVia 10 μl 를 섞어 blank로 사용합니다. (세포가 없는 배양 배지 + CellVia). 세포가 없는 배양 배지에 CellVia를 넣어준 경우에도 배지의 종류, incubation 시간, 빛의 노출 때문에 미약한 흡광도가 측정 될 수 있습니다.

□ General Protocol – Cell Proliferation & Cytotoxicity Assay

1. 세포 배양액을 준비하여 96 well plate에 well당 100 μl 씩 분주하여, 24 시간 정도 CO₂ incubator에서 배양합니다. (e.g., at 37°C, 5% CO₂)
2. 다양한 농도로 준비된 실험물질 (e.g. toxicant)을 각 well에 10 μl 씩 첨가합니다.
3. 실험 조건에 맞게 적절한 시간 동안 incubator에서 반응 시킵니다. (e.g. 6, 12, 24, 48 hours)
4. CellVia 10 μl 를 각 well에 첨가해 줍니다.
5. 0.5 ~ 4 hours 정도 incubator에서 반응 시킵니다.
6. 흡광도를 측정 하기 전 1 분 정도 부드럽게 shaking 합니다.
7. Microplate reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정합니다. (Reference wavelength 600 ~ 650 nm)

□ Note

1. CellVia 첨가 후의 반응 시간은 세포의 종류나 농도에 따라 다르므로, 본 실험을 수행하기 전 최적의 실험 결과를 위하여, 예비실험을 통해 실험에 사용할 세포 수와 최적 반응 시간을 결정하는 것이 좋습니다.
2. 흡광도 측정 시 bubble이 있는 경우 정확한 흡광도 측정이 어려울 수 있습니다. 흡광도 측정 전 bubble을 제거해 주는 것이 좋습니다.
3. 실험에 사용하려는 실험물질이 reducing agents인 경우 CellVia내의 WST와 반응하여 formazan을 형성 할 수 있습니다. Reducing agent를 사용하실 경우, 실험 전 흡광도 측정을 통해 확인해 보는 것이 좋습니다.

□ Frequently Asked Questions

Q1: MTT, MTS, XTT를 사용하는 타사 제품들과 WST를 사용하는 CellVia 의 차이점은 무엇인가요?

기본적인 측정원리는 같지만, 각각의 tetrazolium salt에 의해 생성된 formazan의 물에 대한 용해성이 다릅니다. MTT의 경우는 물에 녹지 않은 크리스탈 형태의 formazan을 형성하기 때문에 DMSO같은 유기용매나 계면활성제를 이용하여 용해해야 하는 번거로운 과정이 필요하며, MTS와 XTT는 MTT의 변형체로서 수용성의 formazan을 형성하지만, WST에 비해 용해성이 낮습니다. 때문에 WST를 사용하는 CellVia가 타사제품에 비해 감도가 높고, 측정범위가 넓은 장점을 가집니다. 또한, WST의 감도를 자사의 기술로 업그레이드시켜 WST를 사용하는 타사 제품과 동등하거나 더 좋은 감도로 측정이 가능합니다.

Q2: CellVia를 첨가한 후 흡광도 측정 시 이용할 수 있는 파장의 영역은 어떻게 되나요?

450 nm를 사용하시는 것이 좋습니다. 450 nm filter가 없는 경우 420 – 480 nm사이의 파장에서 측정이 가능합니다.

Q3: 96 well 이외에 다른 크기의 well에도 사용이 가능한가요?

96 well뿐 아니라 6, 24, 48, 384 well등 모든 micro well plate와 다양한 size의 dish에도 사용 가능합니다. 이런 경우 CellVia를 total volume의 1/10로 첨가해 주면 됩니다.

(예: cell in media 200 $\mu\ell$ + 반응물질 100 $\mu\ell$ 인 경우 total volume이 300 $\mu\ell$ 이므로, 1/10인 30 $\mu\ell$ 의 CellVia를 well에 첨가해주면 됨.)

Q4: 현미경 관찰 시 세포들이 많이 죽은 것으로 보이는데, CellVia로 실험한 결과로는 viability가 높은 것으로 나옵니다. 왜 그런가요?

이런 경우 대부분 죽은 것으로 관찰된 세포들이 실질적으로는 damaged cell들로 아직 NADH-dehydrogenase의 활성이 남아있어서 CellVia와 반응하기 때문입니다. 실험 목적상 이러한 damaged cell들을 죽은 것으로 counting 해야 한다면 wash out등으로 제거한 후 다시 측정하셔야 합니다.

Q5: CellVia로 실험한 세포를 이용하여 다른 test를 하고 싶습니다. 가능한가요?

CellVia는 cell toxicity가 거의 없고, 세포에 영향을 주지 않기 때문에 CellVia를 이용한 assay가 끝난 후, DNA나 RNA extraction 및 western blot 등 다른 실험들이 가능합니다.