

CellVia

Enhanced Cell Viability Assay Kit

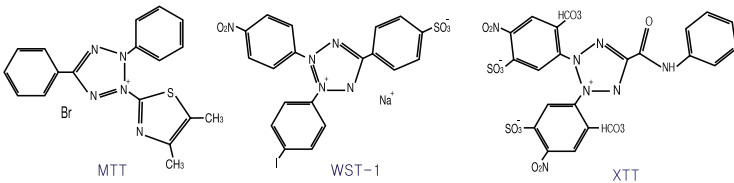
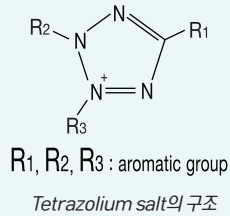


Introduction

Tetrazolium salt를 이용한 cell viability assay

Tetrazolium salt란?

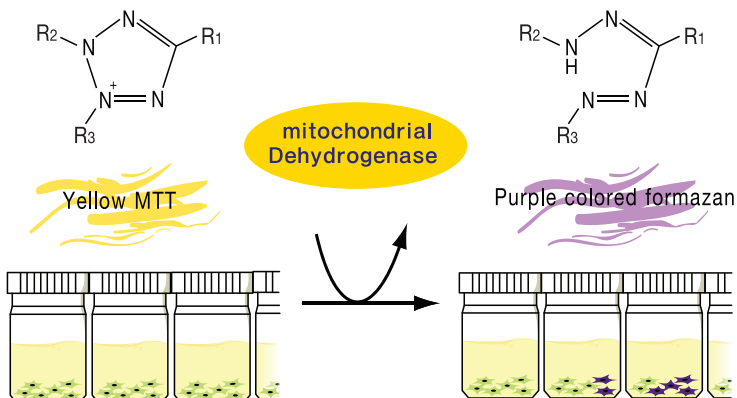
Tetrazolium salt는 3개의 aromatic ring이 연결된 heterocyclic compound의 통칭이며 환원형 화합물 또는 효소에 의해 쉽게 환원되어 발색을 일으킵니다. 일반적으로 오른쪽 그림과 같은 구조를 가지며 결합된 aromatic ring의 종류에 따라 수용액에서의 용해도 흡광 스펙트럼이 달라집니다.



[주로 이용되는 Tetrazolium salt의 예]

Assay Principle

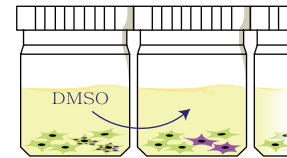
Tetrazolium salt의 4개의 질소로 이루어진 tetrazole moiety는 dehydrogenase 등의 효소에 의해 쉽게 환원되어 유색의 formazan으로 전환됩니다. 이러한 원리로 세포 내의 mitochondrial NADH-dehydrogenase activity 측정에 이용하면, 높은 민감도로 cytotoxicity, cell proliferation assay에 적용할 수 있습니다. Tetrazolium salt 중에서 cell viability test와 관련하여 가장 널리 사용되는 것이 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)로서 일반적인 반응 원리는 다음과 같습니다.



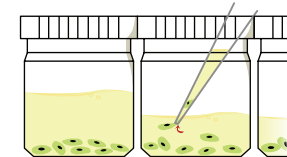
[세포 내의 효소에 의한 환원된 Tetrazolium salt에 의해 보라색으로 세포 염색]

MTT-Advantages and Limitations

세포를 다루는 실험에서 누구나 한 번쯤은 경험했을 MTT assay는 모든 세포 종에 대하여 저렴한 비용으로 측정이 가능하다는 장점이 있지만, 몇가지 제한 요인들이 있습니다.



Insoluble formazan dye를 녹이기 위해 DMSO 등의 유기용매 처리



DMSO 처리 위한 media 제거 과정(suction)에서 세포 손실 위험, 특히 suspension cell 처리에 곤란



multiple time point assay 불가능



혈구세포와 같이 대사 활성이 낮은 세포의 경우 고밀도의 세포가 필요

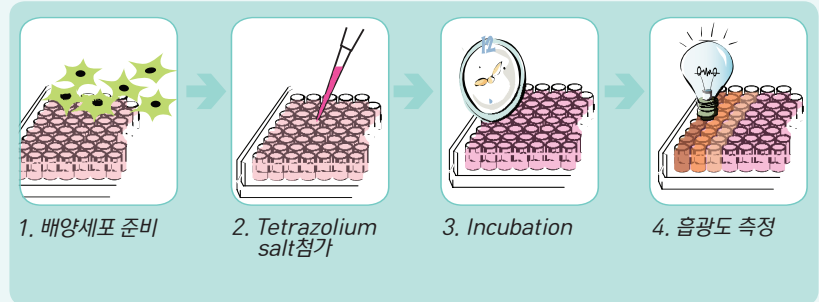
위와 같은 불편함들 때문에 좀 더 민감하고 간편한 방법으로 사용할 수 있는 tetrazolium salt가 요구되었고, 그 결과 MTS, XTT, WST 등의 수용성 tetrazolium salt가 점차 MTT를 대체하여 cell viability assay의 새로운 standard로 자리잡고 있습니다.

New Water Soluble Tetrazolium Salts

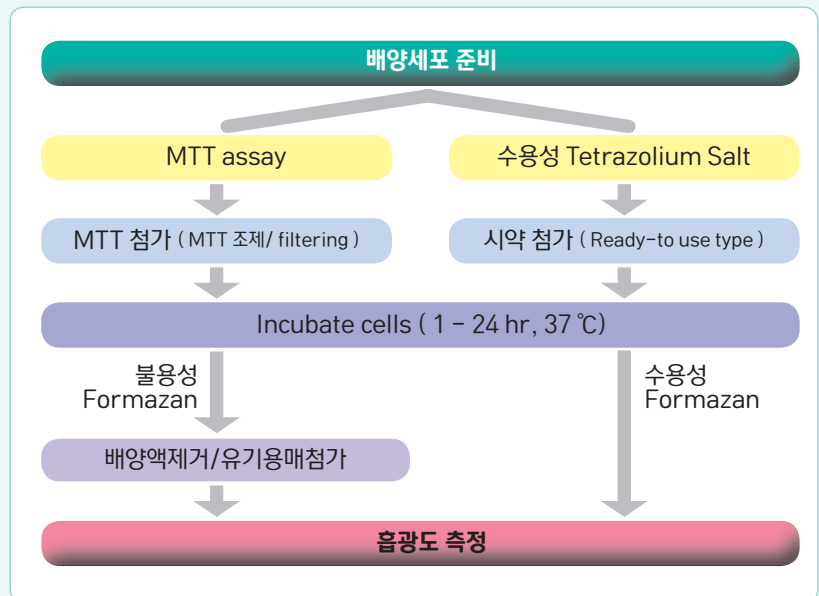
MTS, XTT, WST-1과 같은 수용성 tetrazolium salt들은 앞서 언급한 MTT assay의 단점을 모두 해결해 줍니다.

1. 수용성 tetrazolium salt는 생성된 formazan dye의 water solubility가 매우 높아 MTT와 같이 insoluble formazan crystal을 생성하지 않으며, 따라서 이를 녹이기 위해 **DMSO와 같은 유기용매를 처리할 필요도 없습니다.**
2. DMSO처리를 위해 배지를 제거할 필요가 없습니다.
배양세포에 간단히 시약을 첨가하고 일정 시간 후 흡광도만 읽어주면 되므로 배양액 제거 과정에서 있을 수 있는 **세포 손실의 위험이 전혀 없습니다.** 따라서 suspension cell에 특히 편리하게 이용될 수 있습니다.
3. 수용성 tetrazolium salt는 MTT와는 달리 세포가 아닌 배양액에서 formazan이 생성됩니다. 또한 시약 첨가 후 흡광도 측정을 위해 별도의 준비가 필요치 않아 **연속적인 관찰 및 multiple time point assay가 가능합니다.**
4. MTT에 비해 **높은 수준의 감도**를 보이며 동위원소를 이용한 실험법과 비교하였을 때 높은 상관성을 보입니다.

■ 수용성 Tetrazolium Salts를 이용한 실험과정



■ MTT와 수용성 Tetrazolium Salts의 실험방법 비교



■ 수용성 Tetrazolium salt의 예와 특성의 비교

	XTT (Company S)	MTS (Company P)	WSTs (Company R)
Solubility (usage)	낮음 (1.5mM)	보통 (3.6mM)	높음 (5mM)
Stability	낮음	6주 (냉장)	1년이상 (냉장)
Cytotoxicity	낮음	낮음	매우 낮음
Incubation time	4~24hr	1~4hr	
Sensitivity	높음	낮음	매우 높음
Format	Kit (2 bottle set)	Kit (1 bottle, ready to use)	



CellVia

Enhanced Cell Viability Assay Kit

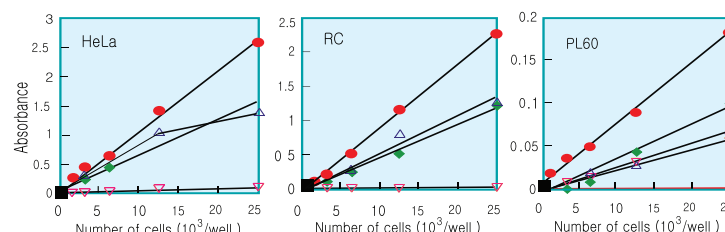
CellVia cell viability assay kit는 수용성 tetrazolium salt 중에서 가장 민감도가 높고 편의성이 뛰어난 WST-1을 국내 기술로 업그레이드 시켜 안정성과 민감도, 그리고 경제성까지 더욱 높인 제품입니다.

Advantages

1. Simple Method: Just Add-and read 방식
- No Wash, No Harvesting,
No Solubilization step
2. Enhancer로 인한 기존 WST-1 assay 보다 월등히 뛰어난 민감도
3. MTT, MTS, XTT 기반의 분석법들 보다 빠르고 안정하며 더 민감함
4. [3H]-thymidine incorporation assay와 높은 상관관계를 가짐

Applications

1. Growth factors, cytokines, mitogens 그리고 nutrients 등으로 인한 세포 proliferation 측정
2. Anticancer drugs 또는 다른 toxic agents, pharmaceutical compounds 등과 같은 Cytotoxic compound의 분석



Comparison between CellVia and other tetrazolium salts in cell viability assays

● CellVia ◆ XTT ▲ MTS ▼ MTT



Ordering information

Catalog No.	Assay	Contents of the Kit	Price
LF-EZ1001	1000 tests	5 mL x 2 bottles	₩200,000
LF-EZ1001A	3000 tests	5 mL x 6 bottles	₩350,000