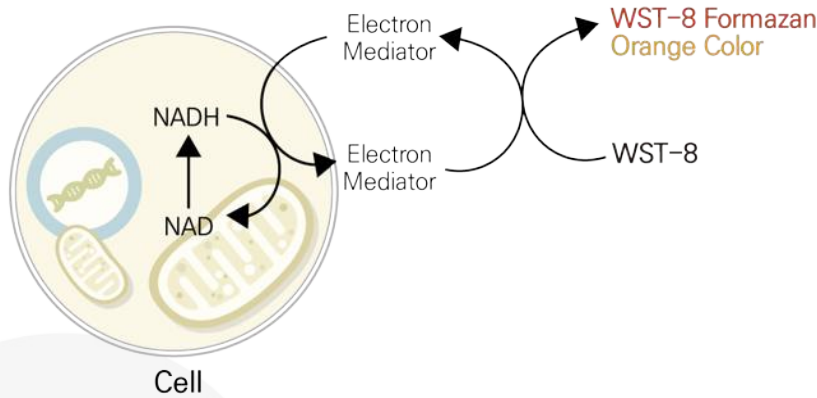


WST-8 Cell Counting Kit

(Colorimetric)

QM1000/2500/5000/10000, 1000/2500/5000/10000 Assays

제품 원리



BIOMAX WST-8 Cell Counting Kit에서의 WST-8이 세포 대사에서 생성하는 NAD(P)H, Electron mediator와 반응하여 수용성의 주황색 Formazan을 생성하며 450 nm 흡광도 측정을 통해 확인할 수 있습니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Cat No.	Components	Size	Storage
QM1000	1000 Tests	5 ml X 2 Bottles	4°C
QM2500	2500 Tests	5 ml X 5 Bottles	
QM5000	5000 Tests	25 ml X 2 Bottles	
QM10000	10000 Tests	25 ml X 4 Bottles	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 4 °C 보관 시 약 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ Colorimetric microplate reader (450 nm Filter)
- ▶ 96-well Microplate (Clear, Flat Bottom)
- ▶ CO₂ Incubator (37°C)

Background control

실험 시 공통적으로 필요한 Background control

실험에 사용되는 세포 배양 배지 100 μ l와 WST-8 Cell Counting Kit 10 μ l를 반응시켜, Background 값으로 측정합니다.

실험 과정

세포와 WST-8 Cell Counting Kit의 반응 시간은 세포의 종류, 농도 등에 따라 차이가 생기므로 예비실험을 통해 세포의 수, 반응 시간을 최적화 하신 후 본 실험을 진행하십시오.

Cell viability assay

- ① 배양한 세포를 배지에 풀어 현탁액($5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ cells/ml Density)을 준비합니다.
- ② 96-well Microplate에 준비한 세포 현탁액을 100 μ l($5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ cells/well) 분주합니다.
- ③ CO₂ 세포배양기에서 24~48 h 배양합니다.
- ④ WST-8 Cell Counting Kit 10 μ l (Media volume의 10%)를 각 Well에 처리 후 30 min ~ 4 h CO₂ Incubator에서 배양합니다.
- ⑤ 반응 후, 흡광도를 측정하기 전 Shaking 합니다.
- ⑥ Colorimetric microplate reader로 450nm에서 측정합니다.

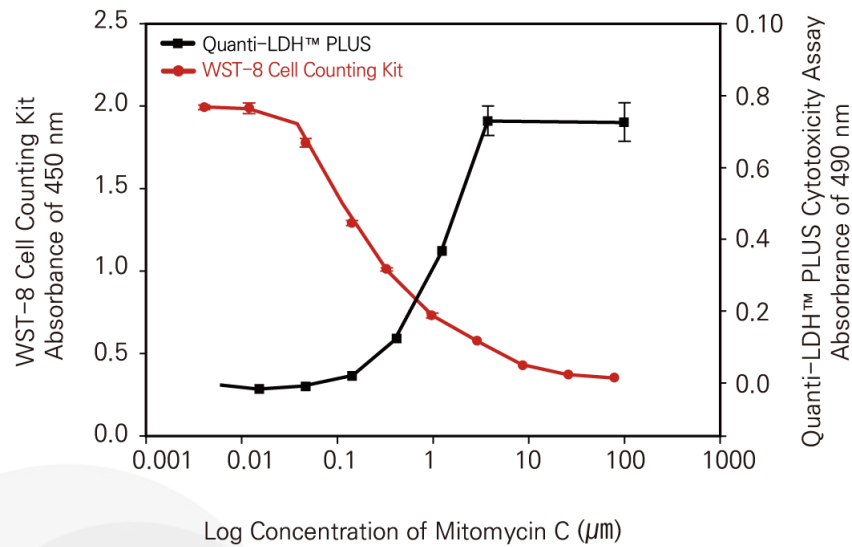
Cell proliferation & Toxicity assay

- ① 100 μ l의 세포 현탁액 ($\sim 5 \times 10^3$ cells/well)을 96-well Microplate에 분주 후 CO₂ Incubator에서 24 h 배양합니다.
- ② 처리하고자 하는 물질을 다양한 농도로 10 μ l 분주합니다.
- ③ 물질이 반응하는 시간을 (e.g., 6, 12, 24, 48 h) 적절히 나누어 배양합니다.
- ④ WST-8 Cell Counting Kit 10 μ l(Media volume의 10%)를 각 Well에 분주합니다.
- ⑤ 30 min ~4 h 배양합니다.
- ⑥ Colorimetric microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정합니다.

Reference control (Optional)

- ▶ 600~650 nm에서 Reference 흡광도 값을 얻을 수 있습니다. 이를 450 nm에서 빼게 되면 기본 탁도를 제거할 수 있습니다.

결과 분석



Mitomycin C을 처리한 HeLa Cell의 Viability와 Cytotoxicity.

참고 사항 및 주의 사항

- ▶ 제품은 오직 실험 연구용으로만 사용이 가능합니다.
- ▶ 96-well Microplate format이 아닌 다른 크기의 배양 용기를 사용하시는 경우에는 Cell medium의 1/10의 비율로 WST-8 Cell Counting Kit를 처리합니다.
- ▶ WST-8 Cell Counting Kit 처리 후 흡광도 측정 시 Bubble이 있으면 정확한 측정이 안될 수 있으므로 측정 전 Bubble을 제거합니다.

Q&A

① 최소량의 세포

부착세포의 경우 최소 1000 Cells가 Well 안에 들어있어야 하며, Leukocytes에 경우 2500 Cells가 Well 안에 들어있어야 합니다. 이 이하의 세포를 사용할 경우 감도가 급격히 떨어질 수 있습니다.

② Staining 목적으로 사용이 가능합니까?

이 제품은 Staining 목적으로 쓰실 수 없습니다.

③ Phenol red가 실험 결과에 영향을 줍니까?

Culture media에 쓰이는 Phenol red의 흡광도는 Blank 값으로 제거가 가능합니다. 따라서, Phenol red가 들어간 배지도 사용 가능합니다.

④ 450nm 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 Wash하여 사용합니다. 이 때, Suspension cell에서는 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

㉠ O.D 값이 Limit(2.0이상)를 초과하였습니다.

- 세포 양이 너무 많습니다.
- Incubation time이 너무 깁니다. 부착 세포의 경우 최소 1000 Cells가 Well 안에 들어있어야 하며, Leukocytes에 경우 2500 Cells가 Well 안에 들어있어야 합니다. 이 이하의 세포를 사용할 경우 감도가 급격히 떨어질 수 있습니다.

㉡ 세포가 분명히 죽었는데 반응이 나옵니다.

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

㉢ 독성 있는 약물을 처리한 Well이 처리를 하지 않은 Well 보다 흡광도 값이 높을 경우

- 독성이 있는 물질이 낮은 농도로 투여될 경우, 세포의 활성을 높일 수 있습니다. 이 때 LD₅₀ 가 결정된다면, 증가된 흡광도는 무시합니다.

㉣ High variation

- Edge effect를 확인합니다.
- Well에 잘 혼합이 되지 않을 경우 발생할 수 있습니다.
- Well 내부에 Bubble이 있을 수 있습니다.

㉤ No color or less color (Pale orange)

- 정상적인 반응의 색은 노란색 또는 주황색입니다.
- 세포의 수가 적은 경우, Color가 나타나지 않을 수 있습니다. 세포수를 늘리는 것을 권장합니다.
- 세포의 수가 많은 경우, 주황색이었다가 색이 빠지거나 투명하게 보일 수 있습니다. 세포의 수를 줄입니다.
- 본 실험을 하기 전에 세포의 수를 여러 개로 하여 반응을 테스트 하기를 권장해 드립니다. 최적의 세포수를 가지고 실험했을 때 적절한 흡광도 값은 0.5~1 (최대 1.5)사이입니다.

Related products

- | | |
|--------------------|--|
| - BCT-LDHP500/1000 | Quanti-LDH™ PLUS Cytotoxicity Assay Kit (Colorimetric) |
| - BCV-R1000/3000 | MAX-Blue™ Resazurin Cell Viability Assay Kit (Colorimetric/Fluorometric) |
| - BCV-F500/1000 | MAX-Fluor™ Calcein-AM Cell Viability Assay Kit (Fluorometric) |
| - BDA-1000 | MAX-View™ Live/Dead Cell Staining Kit (Fluorometric) |
| - QA-0100/1000 | Quanti-ATP™ Luciferase Cell Viability Assay Kit (Luminometric) |

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 **MSDS**를 참조하십시오.



Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note

