

Cell Proliferation Assay Kit

WSE-7610

EzCyto Proliferation Kit

Cell Cytotoxicity Assay Kit

WSE-7620

EzCyto LDH Cytotoxicity kit



빠르고 효율적인 분석



간편한 조작



고감도 검출



다검체 분석



장기 냉동 보관

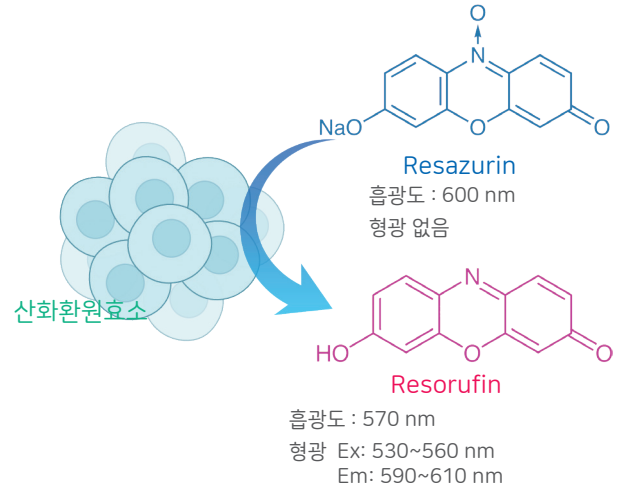
WSE-7610 EzCyto Proliferation Kit

Product Overview

WSE-7610 EzCyto Proliferation Kit 는 살아있는 세포의 대사 활성을 지표로 세포 생존율과 증식 정도를 간편하게 정량 평가할 수 있는 키트입니다. 배양 세포에 시약을 첨가하고 일정 시간 반응시킨 후 형광 또는 흡광도를 측정하는 간단한 과정으로 결과를 얻을 수 있어, 복잡한 조작 없이 다검체 스크리닝에도 활용할 수 있습니다.

키트에 포함된 파란색 Resazurin 은 살아있는 세포의 미토콘드리아와 세포질에 존재하는 산화환원효소에 의해 환원되어 강한 형광을 나타내는 분홍색 Resorufin 으로 전환됩니다. 이 반응은 세포의 대사 활성에 의존하며, 일반적으로 살아있는 세포 수와 대사 활성이 높을수록 생성되는 Resorufin 의 양이 증가합니다.

따라서 생성된 Resorufin 의 형광 또는 흡광도를 측정하여 세포 생존율과 증식 정도를 간접적으로 정량 평가할 수 있습니다.



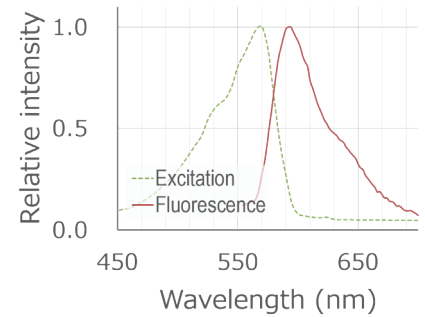
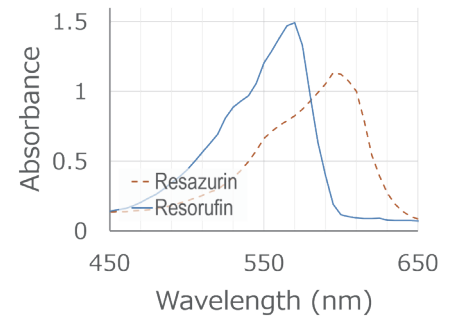
Features

- ✓ 살아있는 세포 수 평가를 위한 Assay Kit
- ✓ 세포의 대사 활성을 기반으로 한 정량 평가
- ✓ 파란색 시약으로 첨가 여부를 쉽게 확인할 수 있어 조작 실수 방지
- ✓ 세포 세척 및 용해 과정 불필요
- ✓ 흡광도 및 고감도 형광 검출 지원

흡광 : 570 nm / 600 nm
형광 : Ex 530~560 nm / Em 590~610 nm

- ✓ 포유류 세포, 세균, 진균 및 식물 세포에 적용 가능
- ✓ 별도의 시약 조제 없이 바로 사용할 수 있는 단일 시약 방식
- ✓ 냉동 보관 시 12 개월간 안정성 유지

해동 후 냉장 보관 시 6 개월간 안정성 유지



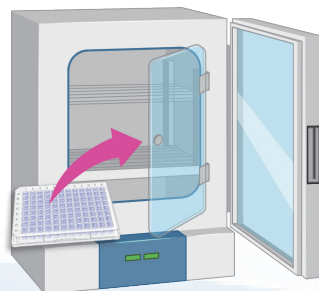
How to Use

1 시약 첨가



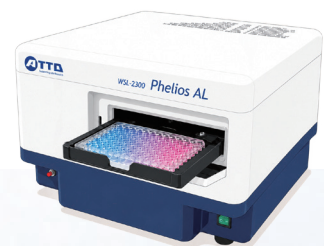
96-well plate 의 각 well 에 배양액 대비 1/10 부피의 EzCyto Proliferation Kit 시약을 첨가합니다.
(예 : 배양 세포 100 μ L 에 시약 10 μ L).

2 Incubation

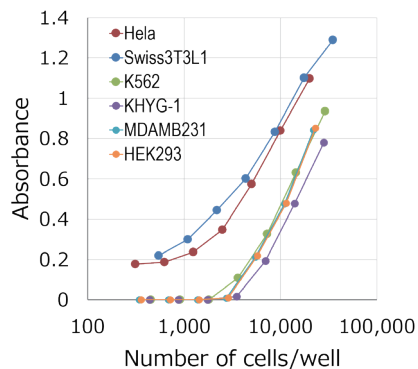


CO₂ 인큐베이터에서 1~4 시간 반응시킵니다.

3 Plate Reader 측정

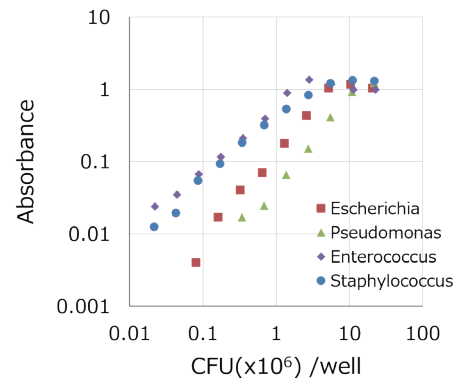


570 nm 에서 흡광도를 측정합니다 (Reference: 600 nm). 또는 형광 (Ex 530~560 nm / Em 590~610 nm) 을 측정합니다.



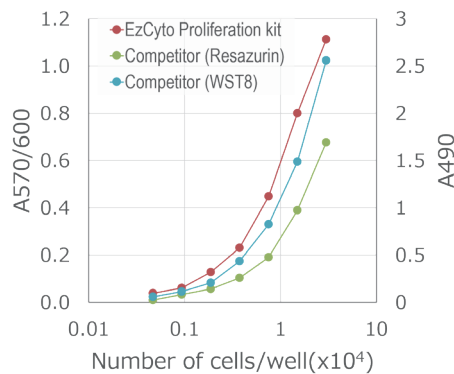
세포 수에 따른 흡광도 변화

각 세포주를 2 배씩 단계 희석 (2-fold serial dilution) 하여 96-well plate 에 배양했습니다. WSE-7610 EzCyto Proliferation Kit 시약을 첨가하고 2 시간 동안 반응시킨 후 흡광도 (A570/A600)를 측정했습니다. 모든 세포주에서 세포 수가 증가함에 따라 흡광도도 증가하는 경향을 보였으며, 이를 통해 살아있는 세포 수에 비례하는 신호를 확인할 수 있었습니다. 또한 세포주별 흡광도 차이를 통해 세포의 대사 활성에 차이가 있음을 확인할 수 있었습니다.



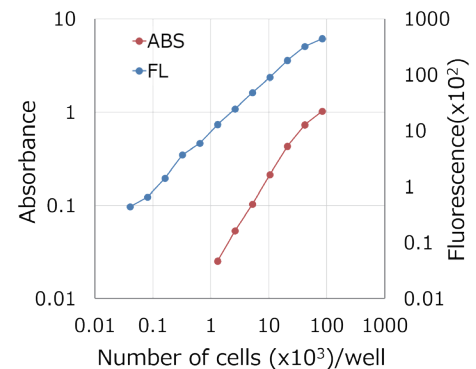
세균 수에 따른 흡광도 변화

Log phase 에 있는 Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis 및 Staphylococcus aureus 를 초기 농도 $5 \sim 10 \times 10^6$ cells/mL 에서 2 배씩 단계 희석했습니다. EzCyto Proliferation Kit 시약을 첨가하고 3 시간 동안 반응시킨 후 흡광도를 측정했습니다. 모든 균종에서 세균 수가 증가함에 따라 흡광도도 증가하는 경향을 보였으며, 이를 통해 살아있는 세균 수에 비례하는 신호를 확인할 수 있었습니다.



경쟁 제품과의 비교

HepG2 세포를 2 배씩 단계 희석하여 96-well plate 에 배양했습니다. EzCyto Proliferation Kit 또는 경쟁 제품의 시약을 첨가하고 3 시간 동안 반응시킨 후 흡광도를 측정했습니다. EzCyto Proliferation Kit 는 경쟁 제품과 동등한 수준의 검출 감도를 보였으며, 세포 수가 증가해도 흡광도 신호가 쉽게 포화되지 않아 더 넓은 범위의 세포 수를 측정할 수 있었습니다.



흡광 측정과 형광 측정 비교

HeLa 세포를 2 배씩 단계 희석하여 96-well plate 에 배양했습니다. EzCyto Proliferation Kit 시약을 첨가하고 3 시간 동안 반응시킨 후 흡광도 (570/600 nm) 와 형광 (Ex 560 nm / Em 590 nm) 을 측정했습니다. 형광 측정은 흡광도 측정보다 20 배 이상 높은 검출 감도를 보였으며, 수십 개의 세포도 검출할 수 있었습니다.

Specifications

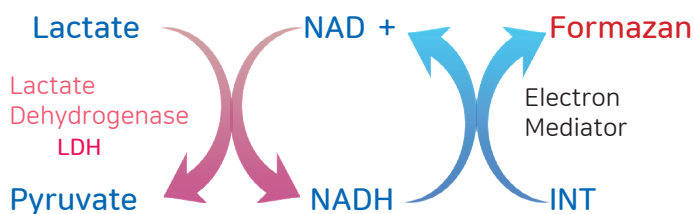
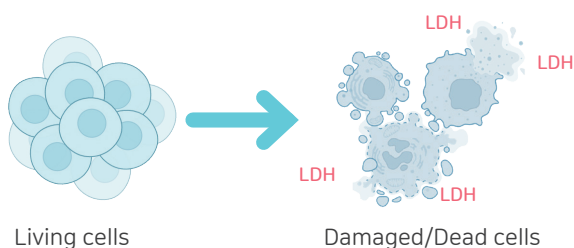


모델 · Code 제품명	WSE-7610 · 2332440 EzCyto Proliferation Kit
용량	25 mL (10 ×)
측정 가능 검체 수	약 2,500 samples
검출 시약	Resazurin
검출 방식	비색 : 570 nm(측정) / 600 nm(Reference) 형광 : Ex 530~560 nm / Em 590~610 nm
시약 조제	별도 조제 불필요
사용 방법	1) 96-well plate 기준, 배양 세포 100 μ L 에 시약 10 μ L 를 첨가합니다. 2) CO ₂ 인큐베이터에서 1~4 시간 반응시킵니다. 3) Plate reader 로 흡광도 또는 형광 강도를 측정합니다.
측정 대상	포유류 세포, 진핵세포, 세균 및 진균류
보관 조건	차광 · 냉동 ($\leq -20^{\circ}$ C): 제조 후 1 년 차광 · 냉장 ($2 \sim 10^{\circ}$ C): 약 6 개월 동결 · 해동 10 회까지 안정
운송 온도	냉장 또는 냉동 운송

WSE-7620 EzCyto LDH Cytotoxicity kit

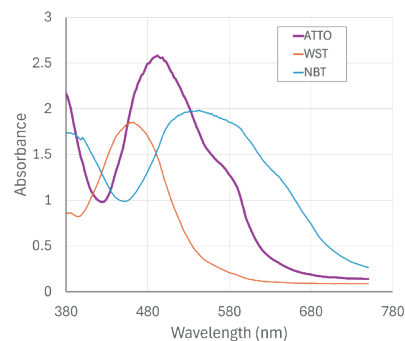
Product Overview

WSE-7620 EzCyto LDH Cytotoxicity Kit 는 세포 손상 시 배양액으로 방출되는 Lactate Dehydrogenase(LDH) 의 활성을 측정하여 세포 독성을 정량적으로 평가할 수 있는 키트입니다. 또한 키트에 포함된 Resazurin 시약을 이용하면 형광 또는 흡광도 측정을 통해 살아있는 세포의 대사 활성과 생존율을 평가할 수 있습니다. 이를 통해 세포 손상과 생존 상태를 함께 확인하여 세포독성을 다각적으로 분석할 수 있습니다. LDH 는 세포질에 존재하는 효소로, 세포막이 손상되면 배양액으로 방출됩니다. 따라서 배양 상등액의 LDH 활성을 측정하여 NK 세포 및 세포독성 T 림프구(CTL) 와 같은 면역세포에 의한 세포독성뿐 아니라 약물이나 화학물질에 의해 유발되는 세포독성도 평가할 수 있습니다. 배양 상등액에 방출된 LDH 는 Lactate 를 Pyruvate 로 산화시키는 동시에 NAD 를 NADH 로 환원합니다. 생성된 NADH 는 전자 매개체를 통해 Tetrazolium salt 인 INT 를 환원시켜 Formazan 색소를 형성합니다. 이때 생성되는 색소의 양은 LDH 활성에 비례하므로, 약 490 nm 에서 흡광도를 측정하여 세포 손상 정도를 정량적으로 평가할 수 있습니다.



Features

- ✓ 세포독성 및 세포 손상 (사멸) 평가를 위한 Assay Kit
- ✓ 흡광도를 이용한 정량 평가
흡광도 : 490 nm / Reference wavelength: 680 nm.
- ✓ 세포 세척 및 용해 과정 불필요
- ✓ 세포독성 평가 및 약물 스크리닝에 적합
- ✓ 살아있는 세포 분석을 위한 Resazurin 시약 포함
- ✓ 시간 경과에 따른 측정 (Time-course assay) 가능
- ✓ 장기 보관 안정성을 고려한 2 액형 시약 시스템
- ✓ 냉동 보관 시 12 개월, 냉장 보관 시 3 개월간 안정성 유지

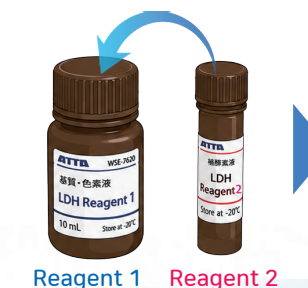


주요 Formazan 의 흡수 스펙트럼

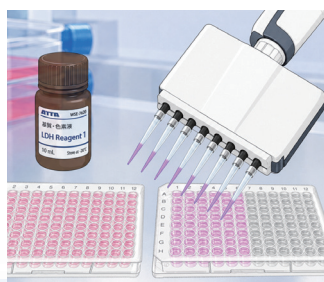
EzCyto LDH Cytotoxicity Kit 는 INT 를 사용하며, 최대 흡수 파장은 490 nm 입니다.

How to Use

- 1 LDH Working Solution 조제
- 2 배양 상등액 회수 및 시약 첨가
- 3 반응 및 정지
- 4 Plate reader 측정



LDH Reagent 1(5 mL) 1 병과 LDH Reagent 2(1 mL) 1 병을 혼합하여 LDH Working Solution 을 조제합니다.



배양 상등액 100 μ L 에 LDH Working Solution 50 μ L 를 첨가합니다. 배양 중인 세포에 직접 첨가하여 측정할 수도 있습니다.



실온에서 10~30 분간 반응시킨 후, 각 well 에 LDH Stop Solution 50 μ L 를 첨가하여 반응을 정지시킵니다.

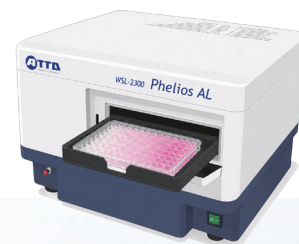


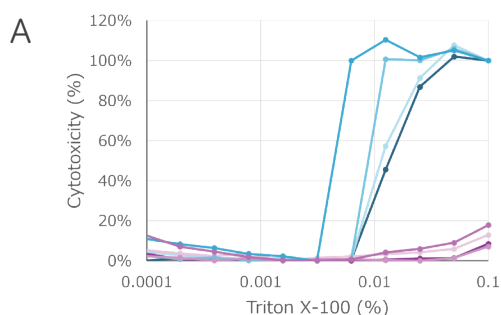
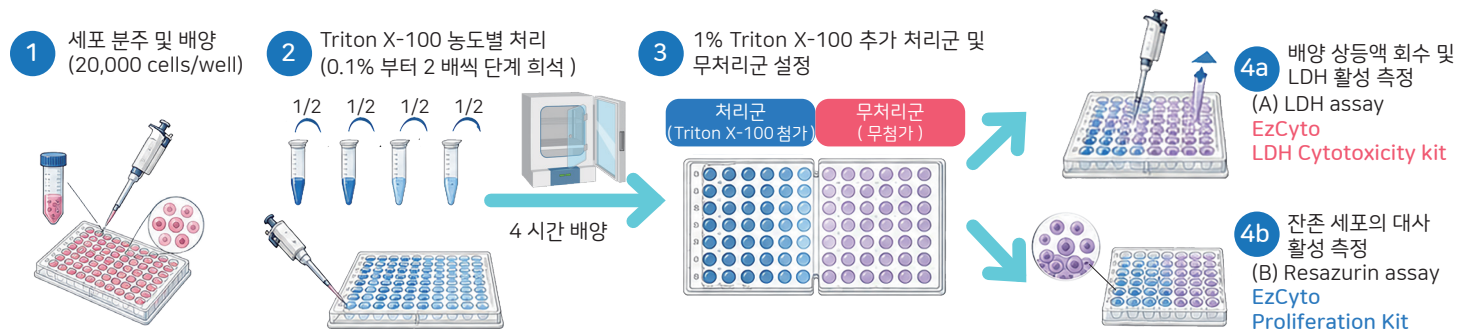
Plate Reader 를 이용하여 490 nm 에서 흡광도를 측정합니다 (Reference: 680 nm).

약물 및 화학물질에 의한 세포독성 평가

다양한 세포를 96-well plate에 20,000 cells/well의 밀도로 분주하여 배양했습니다. 다음 날 Triton X-100을 최종 농도 0.1%부터 2배씩 단계 희석하여 처리하고, 4시간 동안 배양했습니다.

이후 Triton X-100을 최종 농도 1%로 첨가한 처리군과 무처리군을 설정하여 30분간 추가 배양했습니다.

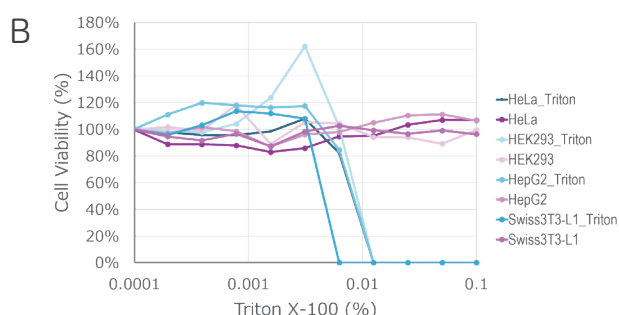
배양 후 상등액을 회수하여 EzCyto LDH Cytotoxicity Kit로 LDH assay(A)를 수행하고, 각 well에 남아 있는 세포는 EzCyto Proliferation Kit를 이용한 Resazurin assay(B)로 분석했습니다.



(A) LDH 활성 기반 세포독성률

LDH 활성은 490 nm에서 측정된 흡광도에서 680 nm의 흡광도를 차감하여 산출했습니다. 1% Triton X-100 처리군의 측정값을 세포독성률 100%의 기준으로 설정했습니다.

세포주에 따라 측정 감도에는 차이가 있었으나, 모든 세포주에서 Triton X-100 농도가 증가할수록 LDH 활성 및 세포독성률이 증가하는 농도 의존적 경향을 보였습니다.



(B) Resazurin assay 기반 세포 생존율

Resazurin assay 결과는 570 nm에서 측정된 흡광도에서 600 nm의 흡광도를 차감하여 산출했습니다. Triton X-100 무처리군의 측정값을 세포 생존율 100%의 기준으로 설정했습니다.

LDH assay 결과와 반대로, Triton X-100 농도가 증가할수록 세포 생존율이 감소하는 농도 의존적 경향이 관찰되었습니다.

이러한 결과는 LDH assay를 통한 세포막 손상 평가와 Resazurin assay를 통한 세포 생존율 평가가 서로 일관된 경향을 나타내며, 두 분석법을 상호 보완적으로 활용할 수 있음을 보여줍니다.

Specifications

모델 · Code
제품명

WSE-7620 · 2332442
EzCyto LDH Cytotoxicity kit

구성품

- 1) LDH Reagent 1: 5 mL × 2 병
- 2) LDH Reagent 2: 1 mL × 2 병
- 3) LDH Lysis Solution: 4 mL
- 4) LDH Stop Solution: 12 mL
- 5) LDH Positive Control: 0.05 mL (10 kU/mL)
- 6) Resazurin Reagent: 1.2 mL × 2 병

측정 가능 검체 수

약 200 samples

발색 시약

INT (Iodonitrotetrazolium Chloride)

측정 파장

비색 : 490 nm(측정) / 680 nm(Reference)

시약 조제

LDH Reagent 1(5 mL) 과 LDH Reagent 2(1 mL) 를 각각 1 병씩 혼합하여 LDH Working Solution 을 조제합니다 .

사용 방법

- 1) 100 μL 시료에 LDH Working Solution 50 μL 를 첨가합니다 .
- 2) 실온에서 10~30 분간 반응시킵니다 .
- 3) LDH Stop Solution 을 50 μL/well 로 첨가합니다 .
- 4) 490/680 nm 에서 흡광도를 측정합니다 .

측정 대상

포유류 세포

보관 조건

차광 · 냉동 (≤ -20° C): 제조 후 1 년
차광 · 냉장 (2~10° C): 약 3 개월
조제한 LDH Working Solution: 냉동 (≤ -20° C) 약 4 주 또는 냉장 (2~10° C) 약 2 주

운송 온도

냉장 또는 냉동 운송

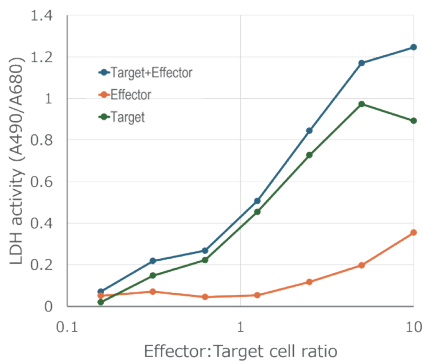
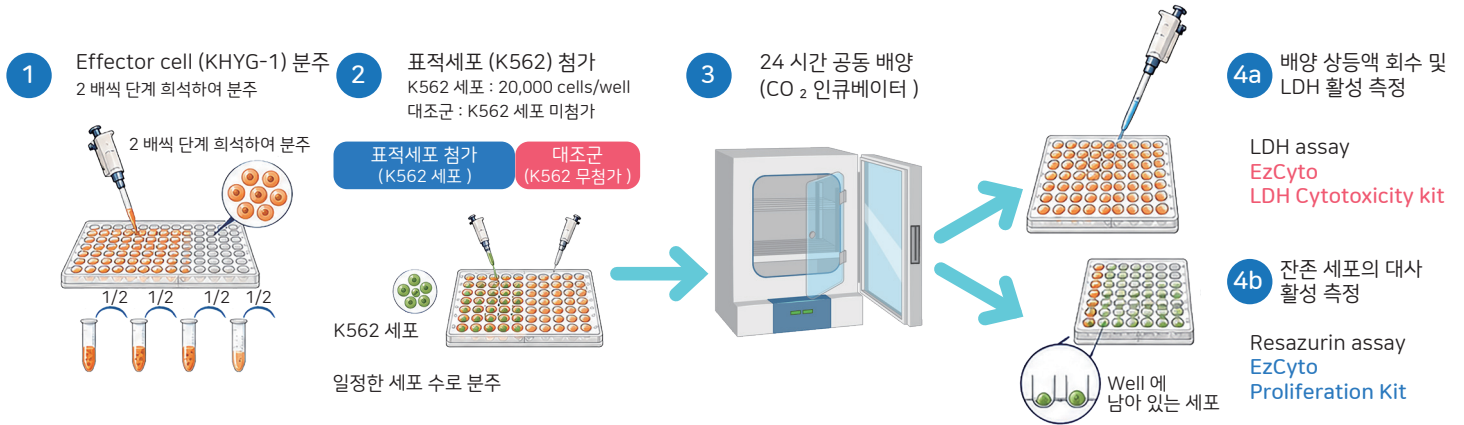


세포 매개 세포독성 평가

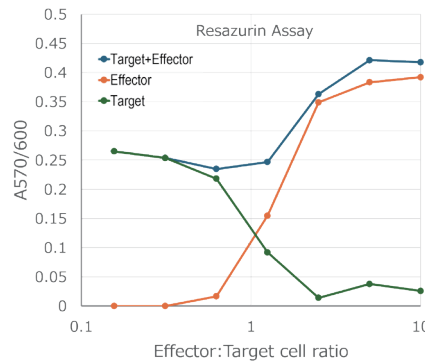
NK 세포 활성 측정에 널리 사용되는 K562 세포를 Target cell 로, NK leukemia-derived cell line 인 KHYG-1 을 Effector cell 로 사용하여 NK 세포독성 평가 모델을 구성했습니다.

KHYG-1 세포를 최대 200,000 cells/well 부터 2 배씩 단계 희석하여 분주한 후, 각 well 에 K562 세포를 20,000 cells/well 로 첨가하여 공동 배양했습니다. K562 세포를 첨가하지 않은 대조군에는 동일한 부피의 배지를 첨가했습니다.

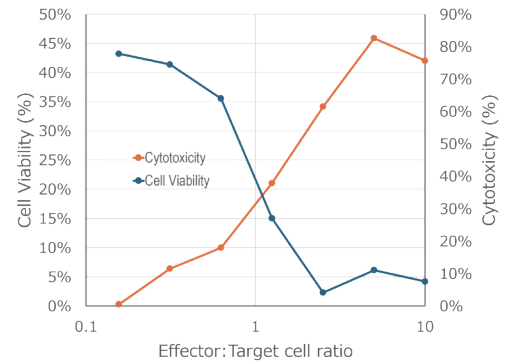
24 시간 배양 후, 각 well 에서 배양 상등액 100 μ L 를 회수하여 EzCyto LDH Cytotoxicity Kit 로 LDH assay 를 수행했습니다. 이후 각 well 에 남아 있는 세포는 EzCyto Proliferation Kit 를 이용한 Resazurin assay 로 분석했습니다.



A. LDH 활성 측정 결과 -
EzCyto LDH Cytotoxicity Kit



B. Resazurin assay 결과 -
EzCyto Proliferation kit



C. Effector cell 과 Target cell 의 비율 (E/T ratio) 에 따른 세포독성 및 생존율 평가

(A) LDH 활성

Effector cell (KHYG-1) 만 배양한 조건에서는 LDH 활성이 전반적으로 낮았으나, 세포 수가 가장 많은 조건에서는 과밀 배양의 영향으로 LDH 활성이 증가하는 경향을 보였습니다.

Target cell (K562) 와 공동 배양한 조건에서는 K562 세포 수가 일정함에도 불구하고, KHYG-1 세포 수가 증가할수록 LDH 활성이 증가했습니다. 또한 Effector cell 과 Target cell (E/T ratio) 이 높아질수록 세포독성이 단계적으로 증가하는 경향이 관찰되었습니다.

이는 KHYG-1 의 세포독성 작용으로 K562 세포가 손상되면서 세포 내 LDH 가 배양 상등액으로 방출된 결과로 해석할 수 있습니다.

(B) Resazurin Assay

Effector cell (KHYG-1) 수가 증가할수록 Resazurin assay 측정값이 감소하는 경향을 보였습니다. 이는 KHYG-1 의 세포독성 작용으로 생존한 K562 세포 수가 감소하면서 전체적인 세포 대사 활성이 낮아진 결과로 해석할 수 있습니다.

종합적으로, LDH assay 를 통한 세포막 손상 평가와 Resazurin assay 를 통한 세포 대사 활성 평가에서 상호 일관된 경향이 관찰되었습니다. 이를 통해 두 분석법을 상호 보완적으로 활용하여 K562 세포에 대한 KHYG-1 의 NK 세포 매개 세포독성 활성을 평가할 수 있음을 확인했습니다.

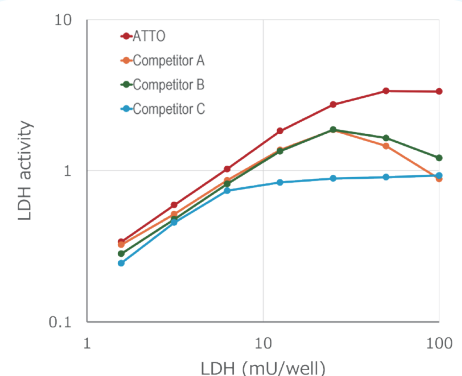
Information

타사 LDH Assay Kit 와의 성능 비교

LDH 표준용액을 2 배씩 단계 희석하여 WSE-7620 EzCyto LDH Cytotoxicity Kit 와 타사 제품 3 종의 성능을 비교했습니다.

모든 제품은 저농도 구간에서 우수한 검출 감도를 보였으나, 일부 타사 제품은 고농도 구간에서 신호 포화 현상이 나타났습니다. 반면, WSE-7620 은 높은 LDH 농도에서도 우수한 선형성을 유지하여 넓은 측정 범위를 나타냈습니다.

이를 통해 WSE-7620 은 저농도에서 타사 제품과 유사한 검출 감도를 제공하면서도, 고농도 시료까지 폭넓게 측정할 수 있음을 확인했습니다.



D. EzCyto LDH Cytotoxicity Kit 와 타사 제품의 LDH 활성 측정 성능 비교



(주)아토코리아

대전광역시 유성구 복용동로 43, 도안더리브스그니처 F623호

Tel. 042-822-1117 / Fax. 042-825-1116

URL : www.attokorea.co.kr

E-Mail : info@attokorea.co.kr

0,000 001 = 10^{-6}	micro
0,000 000 001 = 10^{-9}	nano
0,000 000 000 001 = 10^{-12}	pico
0,000 000 000 000 001 = 10^{-15}	femto
0,000 000 000 000 000 001 = 10^{-18}	ATTA