

A large orange semi-circle on the left side of the page.

Immunservice

WST-1
Zellproliferations-Kit
(ready-to-use)

GEBRAUCHSANWEISUNG

A large grey semi-circle at the bottom of the page, containing a faint, light grey version of the "immunservice" logo.

immun
service

1. Einleitung
2. Kurzübersicht
3. Kit-Bestandteile und Lagerungsbedingungen
4. Arbeitsprotokoll
5. Bestellinformationen
6. Weitere Produkte
7. Referenzen

1. Einleitung

Die Bestimmung der Zellproliferation und Zellviabilität hat sich in vielen Bereichen der Biowissenschaft zu einer Schlüsseltechnologie entwickelt. Das Immunservice WST-1 Zellproliferations-Kit ermöglicht Ihnen eine einfache, schnelle und präzise Bestimmung der Zellproliferation, der Zellviabilität und Zytotoxizität.

Der Assay bietet besonderen Anwendungskomfort und ermöglicht eine nicht-radioaktive, spektrophotometrische Quantifizierung der Proben in 96-Well Mikrotiterplatten.

Das Produkt ist u.a. für folgende Anwendungsbereiche geeignet:

- Messung der Proliferation verschiedenster Zelltypen als Reaktion auf Zytokine, Wachstumsfaktoren, Mitogene, Nährstoffe, etc.
- Untersuchung der Auswirkung von zytotoxischen und zytostatischen Substanzen, wie bspw. Arzneimittel oder andere pharmazeutische Agenzien.
- Screening von Zellwachstumshemmern, z.B. Antikörper, physiologische Botenstoffe, etc.

Nachweisprinzip:

Die Quantifizierung der Zellproliferation basiert auf der Spaltung des wasserlöslichen Tetrazoliumsalzes WST-1 in einen Formazan-Farbstoff durch zelluläre mitochondriale Dehydrogenasen. Diese Enzyme sind ausschließlich in lebenden Zellen aktiv. Eine Erhöhung der Zellzahl führt zu einer erhöhten Aktivität der Dehydrogenasen und damit gleichzeitig zur Bildung von größeren Mengen des Formazan-Farbstoffes. Die Menge des dunkelgelben Farbstoffes kann durch die Messung der Absorption bei 420 – 480 nm quantifiziert werden. Die Höhe der Absorption korreliert dabei stark mit der Anzahl der metabolisch aktiven, lebenden Zellen im Assay.

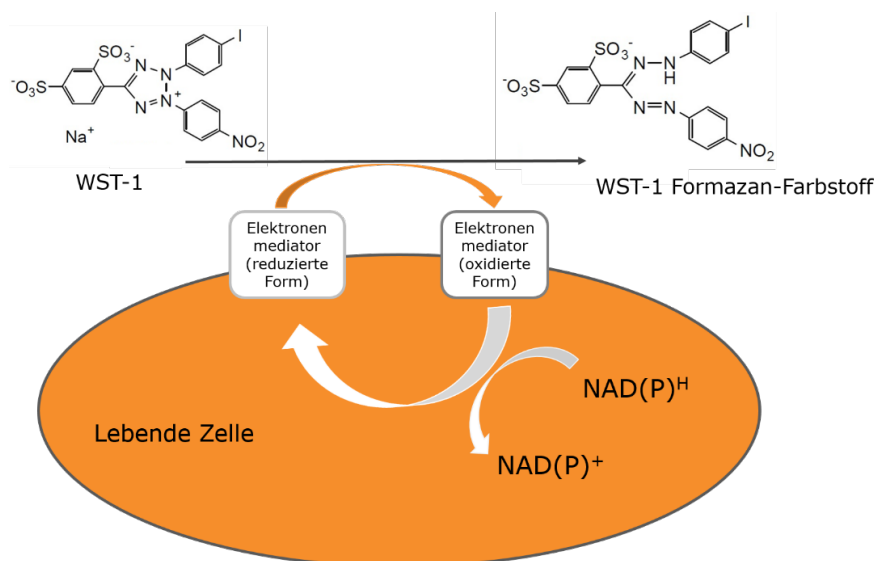


Abbildung 1: Spaltung des Tetrazoliumsalzes WST-1 zum WST-1 Formazan-Farbstoff durch lebende Zellen.

2. Kurzübersicht

Kurzprotokoll:

5 einfache Schritte zum Erfolg Ihrer Zellproliferationsexperimente:

1. Kultivierung von Zellen in einer Mikrotiterplatte
2. Hinzufügen des WST-1 Reagenz aus dem WST-1 Zellproliferations-Kit
3. Inkubation für 1-4 Stunden
4. Messung der Absorption bei 420 – 480 nm
5. Analyse der Daten

Die Vorteile auf einen Blick:

- | | |
|---------------------|--|
| Einfache Handhabung | <ul style="list-style-type: none">○ Immunservice's WST-1 Kit ist gebrauchsfertig und enthält leicht verständliche Arbeitsschritte○ Gesamter Assay kann in einer einzigen Mikrotiterplatte durchgeführt werden○ Kein Waschen, Ernten oder Solubilisieren von Zellen notwendig |
| Sicher | <ul style="list-style-type: none">○ Nicht-radioaktiv |
| Präzise & Sensitiv | <ul style="list-style-type: none">○ Absorption korreliert stark mit der Anzahl metabolisch aktiver Zellen |
| Schnell | <ul style="list-style-type: none">○ Schnelle Farbentwicklung○ Kurze Inkubationszeit○ Bearbeitung von einer großen Anzahl an Proben zur gleichen Zeit möglich |
| Kostengünstig | <ul style="list-style-type: none">○ Unsere Preisgestaltung ist darauf ausgelegt, Sie mit dem günstigsten WST-1 Kit auf dem Markt zu versorgen |
| Stabil | <ul style="list-style-type: none">○ Das Immunservice WST-1 Kit ist für mind. 6 Monate bei -20°C stabil. |

3. Kit-Bestandteile und Lagerungsbedingungen

Art.-Nr.	Bestandteile und Menge	Lagerung
WST1.150813.1	WST-1 und Elektronenmediator in einer Pufferlösung 10 ml (ausreichend für 1000 Assays)	-20°C
WST1.150813.2	WST-1 und Elektronenmediator in einer Pufferlösung 25 ml (ausreichend für 2500 Assays)	-20°C
WST1.150813.3	WST-1 und Elektronenmediator in einer Pufferlösung 4 x 25 ml (ausreichend für 10000 Assays)	-20°C

Das WST-1 Zellproliferations-Kit (ready-to-use) enthält eine klare, rote Flüssigkeit. Es wird empfohlen die Flüssigkeit bei -20°C und vor Licht geschützt zu lagern. Zur Vermeidung von wiederholtem Einfrieren und Auftauen, sollte die Lösung aliquotiert werden. 1 ml Aliquots sind für eine komplette 96-Well Mikrotiterplatte ausreichend. Bei entsprechender Lagerung ist die Stabilität des WST-1-Kits für 6 Monate gewährleistet. Bei einer Lagerung bei +2-+8°C ist das Kit für mindestens 4-6 Wochen stabil.

Es kann zu Ausfällungen und Trübung der Flüssigkeit kommen, besonders wenn diese bei +2-+8°C gelagert wird. Falls dies auftreten sollte, erwärmen Sie die Lösung für einige Minuten auf 37°C. Bis zur Auflösung sanft schütteln. Die Ausfällungen sollten nicht abzentrifugiert werden, um eine Veränderung der Stoffkonzentration zu verhindern.

Zusätzlich benötigtes Material:

- Übliche Laborausstattung (Inkubator, Zentrifuge, Pipetten und Pipettenaufsätze, etc.)
- 96-Well Mikrotiter Spektralphotometer (ELISA Plattenleser) mit Filtern zur Messung der Wellenlänge zwischen 420 – 480 nm und > 600 nm.
- 96-Well Mikrotiterplatte

4. Arbeitsprotokoll

Hinweise zur Durchführung des Assays:

Anwendungskonzentration des WST-1 Zellproliferations-Kits:

Pipettieren Sie 10 µl/Well des WST-1 Reagenz aus dem WST-1 Zellproliferations-Kit auf Zellen, die in 100 µl Kulturmedium kultiviert werden. Sollten Sie ein anderes Kultivierungsvolumen verwenden, passen sie die Menge des WST-1 Kits bitte entsprechend an. Zu 200 µl Kulturmedium fügen Sie bspw. 20 µl WST-1 hinzu.

Inkubationszeit

Die Inkubationszeit ist von den verwendeten Zellen sowie der Zellkonzentration abhängig. Um die optimale Inkubationszeit zu bestimmen, empfehlen wir die Durchführung eines vorläufigen Experimentes unter Berücksichtigung des speziellen Versuchsaufbaus. Zu diesem Zweck können die Mikrotiterplatten an unterschiedlichen Zeitpunkten (z.B. nach 1, 2, 3, 4 h) ausgelesen werden. Anschließend werden die Mikrotiterplatten für eine weitere Farbentwicklung im Inkubator weiter inkubiert und am nächsten Zeitpunkt erneut gemessen.

Für das Erreichen von sehr hoher Sensitivität, können u.U. längere Inkubationszeiten notwendig sein.

Kontrollen

Blank-Kontrolle (Hintergrundkontrolle):

Wir empfehlen die Verwendung einer Blank Kontrolle (Hintergrundkontrolle). Fügen Sie dafür die gleiche Menge Kulturmedium und WST-1, wie in den übrigen Wells, in ein leeres Well (bspw. 100 µl Kulturmedium und 10 µl WST-1). Fügen Sie diesem Well keine Zellen hinzu. Markieren Sie dieses Well als Blank-Position im ihrem Plattenlesegerät.

Anmerkung:

Die Absorptionshöhe der Hintergrundkontrolle ist vom Kulturmedium, der Inkubationszeit und von eventueller Lichteinstrahlung abhängig. Die typische Höhe der Blank-Absorption nach 2 Stunden beträgt etwa 0,1-0,2 Absorptionseinheiten.

Negativ- und Positiv-Kontrollen:

Je nach spezifischen Experiment, empfiehlt sich die Verwendung von geeigneten positiven und negativen Kontroll-Wells.

Zellproliferations-Protokoll:

1. Kultivierung von Zellen ($0.1-5 \times 10^4$ /Well) in einer 96-Well Mikrotiterplatte (Gewebekultur geeignet, flachgrundig) in einem Gesamtvolumen von 100 μ l/Well Kulturmedium unter üblichen Kultivierungsbedingungen (37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre).

Anmerkung:

Eine Zellkonzentration von $0.1-5 \times 10^4$ /Well ist für die meisten Experimente geeignet. Für Toxizitätsassays, kann die Verwendung einer höheren Zellzahl notwendig sein (bspw. $5 \times 10^4 - 5 \times 10^5$ Zellen/Well).

2. Inkubation der Zellen für 24-96 Stunden.

Anmerkung:

Bestimmen Sie die optimale Inkubationszeit für Ihr spezifisches Experiment in einem Vorversuch.

3. Zugabe von 10 μ l des WST-1 Reagenz aus dem WST-1 Zellproliferations-Kit.

Anmerkung:

Sollten Sie ein anderes Kultivierungsvolumen verwenden als 100 μ l, passen Sie die Menge von WST-1 bitte entsprechend an (z.B. 20 μ l WST-1 auf 200 μ l Kulturmedium).

4. Inkubation der Mikrotiterplatte für 1-4 Stunden unter den üblichen Kultivierungsbedingungen (37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre).

Anmerkung:

Bestimmen Sie die optimale Inkubationszeit für Ihr spezifisches Experiment in einem Vorversuch.

5. Mischen der Mikrotiterplatte für etwa 1 min auf einem Schüttler.

6. Messung der Absorption des gebildeten Formazan-Farbstoffes gegen die Blank-Kontrolle mit Hilfe eines Spektralphotometers. Eine Wellenlänge zwischen 420-480 nm ist geeignet um den Farbstoff zu detektieren. Die optimale Absorption des Farbstoffes liegt bei 440 nm. Bei Verwendung einer Referenzwellenlänge sollte diese über 600 nm liegen.

Anmerkungen zum Assay:

1. Die Proben sollten immer in Duplikaten oder Triplikaten gemessen werden, um eine möglichst hohe Genauigkeit der Messergebnisse zu gewährleisten.

2. Der Assay kann durch die Zugabe von 10 μ l Natriumlaurylsulfat (SDS) gestoppt werden.

3. Kulturmedien, die Phenolrot enthalten, können uneingeschränkt für den Assay eingesetzt werden. Es erfolgt keine signifikante Beeinträchtigung durch den Farbstoff beim Auslesen.

5. Bestellinformationen

Bestellungen werden über unsere Homepage, per Telefon, Fax oder E-Mail entgegengenommen.

Homepage: <http://www.immunservice.com>
Telefon: +49 (0)40 / 611 35 184
Fax: +49 (0)40 / 380 178 572 79
E-Mail: order@immunservice.com

Falls sie Fragen, Probleme oder Anregungen haben, können Sie sich gern jederzeit mit uns in Verbindung setzen.

6. Weitere Produkte

- | | |
|--|---|
| 1. WST-1 CTLL-2 Proliferations-Kit | Best.-Nr. WST1.CTLL150813.1
Best.-Nr. WST1.CTLL150813.2
Best.-Nr. WST1.CTLL150813.3 |
| 2. i2Cult IL-2 Komplettmedium
- für die Kultivierung IL-2-abhängiger Zellen | Best.-Nr. IL2.130411.4 |
| 3. i2Cult - CTLL-2 Komplettmedium | Best.-Nr. IL2.130411.5 |
| 4. Rekombinantes Humanes Interleukin-2 | Best.-Nr. IL2.130411.1
Best.-Nr. IL2.130411.2
Best.-Nr. IL2.130411.3 |

Für eine vollständige Übersicht weiterer Produkte und Gebrauchsanweisungen, besuchen und speichern Sie bitte unsere Homepage <http://www.immunservice.com>.

7. Referenzen

1. Berridge, M. V., Herst, P. M. & Tan, A. S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnol. Annu. Rev.* 11, 127–152 (2005)
2. Cook, J. A. & Mitchell, J. B. Viability measurements in mammalian cell systems. *Anal. Biochem.* 179, 1–7 (1989)
3. Heiden, M. G. Vander et al. The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. 324, 1029–1034 (2009).
4. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65, 55–63 (1983).

Für weitere Referenzen kontaktieren Sie bitte Research@immunservice.com



www.immunservice.com

Falls Fragen auftreten, zögern Sie bitte nicht sich mit uns in Verbindung zu setzen: support@immunservice.com

Immunservice GmbH
Christoph-Probst-Weg 4
20251 Hamburg, Deutschland
Tel.: +49 (0)40 / 611 35 184
Fax: +49 (0)40 / 380 178 572 79

Dieses Produkt dient nur zu Forschungszwecken. Es ist nicht für den Einsatz in diagnostischen oder therapeutischen Verfahren gedacht. Verwenden Sie dieses Produkt nicht als Nahrungsmittel, als Kosmetik- oder Hausmittel. Die Produkte der Immunservice GmbH dürfen nicht weiterverkauft oder übertragen, für den Verkauf oder die Übertragung verändert werden, oder zur Herstellung kommerzieller Produkte verwendet werden, ohne eine schriftliche Genehmigung der Immunservice GmbH.

Copyright © 2015 Immunservice GmbH. Alle Rechte vorbehalten.
Die Informationen sind zum Zeitpunkt der Erstellung, nach bestem Gewissen, korrekt.