

产品说明书

产品编号	产品名称	包装
CCK04	Cell Counting Kit-8 (CCK-8 试剂盒)	10000 次

产品内容:

1. Cell Counting Kit-8 简称 CCK-8 试剂盒, 是一种基于 WST-8 的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏度检测试剂盒。
2. WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子耦合试剂存在的情况下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成橙黄色的 formazan (参考图 1)。细胞增殖越多越快, 则颜色越深; 细胞毒性越大, 则颜色越浅。对于同样的细胞, 颜色的深浅和细胞数目呈线性关系。

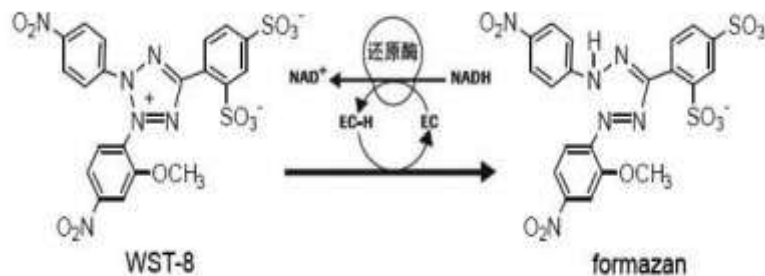


图 1.WST-8 检测原理图 (EC, 电子耦合试剂)

3. WST-8 是 MTT 的一种升级替代产品, 和 MTT 或其它 MTT 类似产品如 XTT、MTS 等相比有明显的优点。首先, MTT 被线粒体内的一些脱氢酶还原生成的 formazan 不是水溶性的, 需要有特定的溶解液来溶解; 而 WST-8 和 XTT、MTS 产生的 formazan 都是水溶性的, 可以省去后续的溶解步骤。其次, WST-8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解。再次, WST-8 比 XTT 和 MTS 更加稳定, 使实验结果更加稳定。另外, WST-8 和 MTT、XTT 等相比线性范围更宽, 灵敏度更高。
4. WST-8 和 WST-1 相比, 检测灵敏度更高, 更易溶解, 并且更加稳定。
5. 本试剂盒可以用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测, 也可以用于抗癌药物等对细胞有毒试剂诱导的细胞毒性检测, 或一些药物诱导的细胞生长抑制检测。
6. 本试剂盒检测非常便捷。试剂盒仅一管已经配制好的含有 WST-8 的 CCK-8 溶液, 无须再进行任何配制等操作。无须使用同位素, 所有的检测步骤仅在同一块 96 孔板内完成。不必洗涤细胞, 不必收集细胞, 也不必采用额外的步骤去溶解 formazan。可以用于大批量样品的检测。
7. 酚红和血清对本试剂盒的测定无明显影响。
8. WST-8 对细胞无明显毒性。加入 WST-8 显色后, 可以在不同时间反复用酶标仪读板, 使检测时间更加灵活, 便于找到最佳测定时间。
9. 本试剂盒可以测定 10000 个样品。

10. 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
CCK04	CCK-8 试剂	2*50ml

11. -20℃避光保存两年有效。

使用说明:

1. 通常细胞增殖实验每孔加 100 μ l 2000 个细胞, 细胞毒性实验每孔加 100 μ l 5000 个细胞(具体每孔所用的细胞的数目, 需根据细胞的大小, 细胞增殖速度的快慢等因素决定)。按照实验需要, 进行培养并给予 0-10 μ l 特定的药物刺激。
2. 每孔加 10 μ l CCK-8 溶液。如果起始的培养体积 200 μ l, 则需加 20 μ l CCK-8 溶液, 其它情况以此类推。可以用加了相应量细胞培养液和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。如果担心所使用的药物会干扰检测, 需设置加了相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。
3. 在细胞培养箱内继续孵育 0.5-4 小时, 对于大多数情况孵育 1 小时就可以了。时间的长短根据细胞的类型和细胞的密度等实验情况而定, 初次实验时可以在 0.5、1、2 和 4 小时后分别用酶标仪检测, 然后选取吸光度范围比较适宜的一个时间点用于后续实验。
4. 在 450nm 测定吸光度。如无 450nm 滤光片, 可以使用 420-480nm 的滤光片。可以使用大于 600nm 的波长, 例如 650nm, 作为参考波长进行双波长测定。
5. 如果需要暂时不测定 O.D 值, 可以向每孔中加入 10 μ l 0.1M HCl 溶液或者 1% w/v 的 SDS 溶液, 避光保存在室温, 24 小时内吸光度不会发生变化。

注意事项:

1. 使用 96 孔板进行检测时, 如果细胞培养时间较长, 请注意蒸发问题。可将 96 孔板外围一圈加培养基、水或 PBS 保湿。同时, 可以把 96 孔板置于培养箱内靠近水盘的位置以缓解蒸发。
2. 培养时间根据细胞种类的不同和每孔内细胞数量的多少而不同。在正式实验前, 建议先做预实验摸索铺板的细胞数量以及加入 CCK-8 试剂后的培养时间。
3. 铺板时请注意保证每个孔细胞数量均匀, 建议铺板过程中注意时常混匀, 防止因细胞沉淀造成不均匀。加入 CCK-8 后请前后左右轻轻晃动培养板数次, 使培养基和 CCK-8 溶液充分混匀。
4. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应, 如果待测物质有氧化性或还原性, 可在加 CCK-8 之前更换新鲜培养基, 去掉药物的影响。若药物影响比较小的情况可以不更换培养基, 直接扣除培养基中加入药物后的空白吸收即可。
5. 加入 CCK-8 时, 如果细胞培养时间较长, 培养基颜色或 pH 值已变化, 建议换用新鲜的培养基。
6. 用酶标仪检测前需确保每个孔内没有气泡, 否则会干扰测定。
7. 本试剂盒系无菌灌装生产。在使用过程中, 请在生物安全柜内无菌操作, 避免污染。
8. 为了您的健康和安, 请穿着实验服并戴一次性手套或乳胶手套操作。