

CCK-8 试剂盒 (Cell Counting Kit-8)

产品描述

CCK-8 试剂盒 是一种基于 WST-8 (化学名: 2,2',6,6'-四氨基-4,4'-联苯基二磺酸钠) 的试剂盒。

四唑单钠盐) 而广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度的比色检测试剂盒。检测原理为：WST-8 在电子传递链 I-MEMOXY PMS 存在的情况下，可以被线粒体内的某些脱氢酶还原生成易溶于水的不稳定的甲臃 (formazan, 参考图 1)，生成的甲臃的颜色深浅与细胞增殖成正比，与细胞毒性成反比。使用酶标仪在 450nm 波长处测定 OD 值，间接反映活细胞数量。

本试剂盒可用于细胞增殖测定，细胞毒性的检测，药物筛选，以及细胞生长抑制检测等。

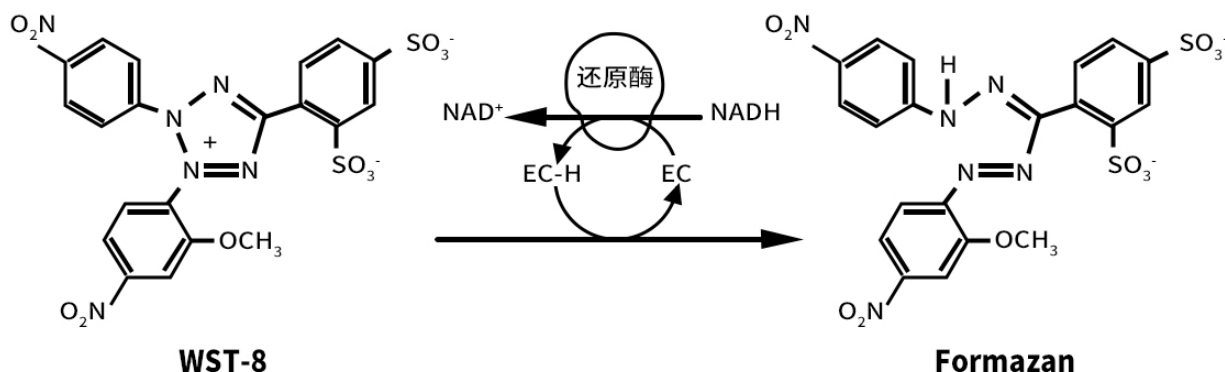


图 1: WST-8 分子结构及检测原理

订购信息

产品名称	规格
CCK-8 试剂盒 (Cell Counting Kit-8)	500T

AO4011

运输与保存

蓝冰运输。4℃短期保存，有效期 6 个月；-20℃长期保存，有效期 24 个月。【注】：反复冻融会造成测定背景 OD 值升高。

使用方法

1. 以 96 孔板为例，96 孔板中每孔接种 100 μ L 的细胞悬液，在细胞培养箱预培养 24 h。
2. 向每孔加入 10 μ L 不同浓度的待测物质。如果仅测定细胞活性，则不需要 2~3 步骤，直接从第 4 步操作。
3. 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间（依据待测药物而定）。
4. 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液（注意不要产生气泡，轻轻混匀）。
5. 将培养板在培养箱内孵育适当时间（一般 0.5~2 h）。
6. 酶标仪测定 450 nm 处的吸光值。

Ac: 对照孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液, 不含药物) ;

Ab: 空白孔吸光度 (含培养基、CCK-8 溶液, 不含细胞、药物) 。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 建议调试合适的接种细胞的数量和加入 CCK-8 溶液后培养的时间。当使用标准 96 孔板时, 贴壁细胞至少 1000 个/ 孔(100 μ L 培养基), 白细胞至少 2500 个/ 孔(100 μ L 培养基)。建议实验前设定几个不同细胞数量的梯度孔进行条件测试, 细胞培养时间和处理方法根据实验情况而定, 加入 CCK-8 溶液后 (加入体积为每孔细胞培养液体积的 10%) , 在 37°C 细胞培养箱中孵育, 不同时间点后测 450 nm 处的吸光值(CCK-8 敏感性高, 一些细胞 0.5 h 后就可以测定第一次)。
3. CCK-8 试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应, 如果待检测体系中有较多还原剂 (或抗氧化剂) 会造成背景 OD 值升高, 干扰检测结果。如果实验中有还原剂, 请检查背景 OD 值, 设法先去除还原剂干扰。例如, 可在加入 CCK-8 溶液之前更换新鲜的培养基, 以去除待测药物的影响。当待测药物影响比较小时, 可以不更换培养基, 直接扣除培养基中加入待测药物后的空白吸收即可。
4. 进行药物抑制实验时, 如果药物中含有金属, 如 Pb^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等金属会对 CCK-8 Solution 的显色反应产生影响, 从而导致检测的灵敏度降低。
5. 如果细胞培养时间较长, 培养基颜色发生变化, 应洗涤细胞更换培养基后再加 CCK-8 检测。细胞培养基酚红不影响测定结果。
6. 为使 CCK-8 试剂盒培养基充分混匀, 减少 CCK-8 在移液器上的残留, 建议加样前用培养基稀释 CCK-8 试剂, 混匀后加样。
7. 若暂时不测定 OD 值, 可以向每孔中加入 0.1 M 的 HCL 溶液或者 1% w/v SDS 溶液, 室温避光保存, 24 h 内检测, 吸光度不会受到影响 (加入 1% SDS 溶液的体积与加入 CCK-8 溶液的体积相同) 。
8. 如果吸光值很低, 可以适当增加细胞数量或者延长加入 CCK-8 溶液后孵育的时间。