

Cell Counting Kit-8 (CCK-8 试剂盒)

产品组成:

产品货号	产品名称	产品规格	保存温度
CK018	Cell Counting Kit-8 (CCK-8 试剂盒)	1ml/100T	4℃ 避光保存一年有效，-20℃ 避光保存两年有效。
CK058		5ml/500T	
CK108		10ml/1000T	
CK208		25ml/2500T	

产品介绍:

增强型 CCK-8 试剂盒或增强型 CCK8 试剂盒,是一种基于 WST-8 而广泛应用于细胞增殖 和细胞毒性的快速、高灵敏度检测的试剂盒,比普通的 CCK-8 试剂盒具有更好的检测灵敏度和更宽的线性范围。

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。

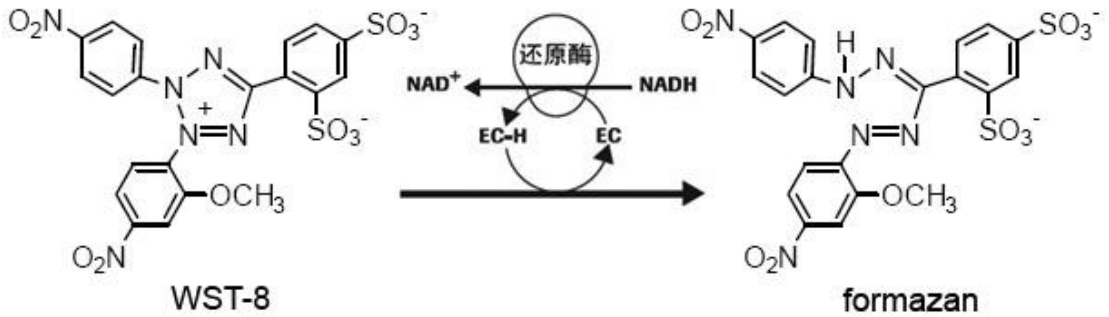
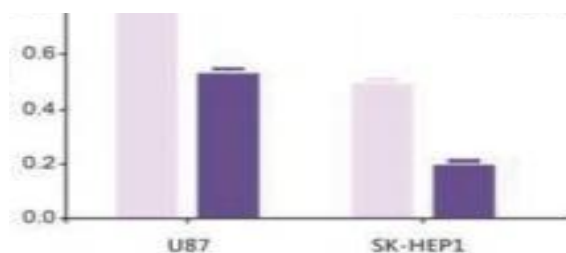


图 1

产品优点:

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:

1. MTT 被线粒体内的一些脱氢酶还原生成的 formazan 不是水溶性的,需用特定的溶剂溶解后 检测,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;
2. WST-8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解;
3. WST-8 比 XTT 和 MTS 更稳定,实验结果更可靠;
4. WST-8 和 MTT、XTT 等相比线性范围更宽,灵敏度更高,并且更加稳定。WST-8 对细胞无 明显毒性。加入 CCK-8 溶液显色后, 可以在不同时间反复用酶标仪读板,检测时间更加灵活,便 于确定最佳测定时间。



CCK-8 试剂盒检测 DDP 细胞毒性

Cell line: U87, SK-HEP1; Medium: DMEM, 10% FBS; Chemicals: 200 μ M Cisplatin (DDP); Incubation: 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂, 2 hours

注：如果待测药物有氧化性或还原性，可在加入 CCK-8 之前更换新鲜培养基，去掉待测药物的影响。当待测药物影响比较小的情况下可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入待测药物后的空白吸收即可。

使用说明：

- 通常细胞增殖实验每孔加入 100 微升 2000 个细胞，细胞毒性实验每孔加入 100 微升 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 微升特定的药物刺激。
- 每孔加入 10 微升 CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200 微升，则需加入 20 微升 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。
- 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。
- 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。
- 将不同数量的 HeLa 细胞按照每孔 100 微升培养液接种到 96 孔板中，培养至细胞贴壁充分后，每孔加入 10 微升的 CCK-8 溶液孵育 2 小时后测定 A450 的检测效果图参考图 2。检测效果仅供参考，实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异。

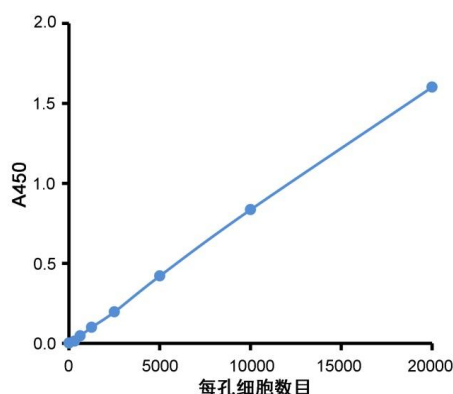


图 2.

CCK-8 试剂盒测定不同数量 HeLa 细胞的检测效果图。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

注意事项:

1. CCK-8 的培养时间一般为 1-4 小时，但在培养 30 分钟左右即可取出肉眼观察显色程度。
根据细胞种类而定，需要摸索条件，CCK-8 的最佳反应时间以具体显色的最佳时间为准；
2. 使用 96 孔板进行检测时，如果细胞培养时间较长，一定要注意蒸发问题。一方面，由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发，可以采取弃用周围一圈的办法，改加相同量的 PBS、水或培养液；另一方面，可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方，以缓解蒸发；
3. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应，所以还原剂(例如一些抗氧化剂)会干扰检测。
如果待检测体系中存在较多的还原剂，需设法去除。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；
4. 加入药物中如含有金属，对 CCK-8 显色有影响。终浓度为 1mM 的氯化亚铅、氯化铁、硫酸铜会抑制 5%、15%、90% 的显色反应，使灵敏度降低；如果终浓度是 10mM 的话，将会 100% 抑制；
5. 培养基中的酚红不会影响实验结果，酚红的吸光度可以在计算时，通过扣除空白孔中本底的吸光度而消去，因此不会对检测造成影响；
6. 本产品可以检测 E. coli, 但不能检测酵母细胞。向 100 μ L E. coli 培养液中加 10 μ L CCK-8 溶液；并培养 1-4 小时或过夜；
7. CCK-8 试剂对细胞的毒性非常低。它和活细胞内的脱氢酶持续反应使溶液颜色不断加深，OD 值不断增加（注：活细胞内的脱氢酶是持续产生的）；
8. 要测定细胞的具体数量，建议同时做标准曲线；
9. 建议采用多通道移液器，以减小平行孔间的差异；
10. 以下方法可以终止 CCK-8 反应(96 孔板)：
 - (a). 在显色反应后，将培养板放置 4℃ 冰箱内；
 - (b). 每孔加 10 μ L 0.1M HCl 溶液；
 - (c). 每孔加 10 μ L 1% (w/v) 的 SDS (十二烷基硫酸钠) 溶液。

本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。