

Cell Counting Kit (CCK-8) 试剂盒

产品描述:

CCK-8 (Cell Count Kit-8) 是一种利用 WST-8 (2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二磺基苯)-2H-四唑单钠盐) 快速检测细胞增殖或毒性试验的方法。WST-8 是一种类似 MTT 的四唑盐, 在电子耦合试剂的存在下, 被活细胞内的脱氢酶还原生成水溶性的橙黄色 Formazan (甲臃), 通过比色法检测甲臃生成量可以反映试验中活细胞的数量。细胞增殖越多越快, 则颜色越深; 细胞毒性越大, 则颜色越浅。颜色的深浅和细胞数目呈线性关系。

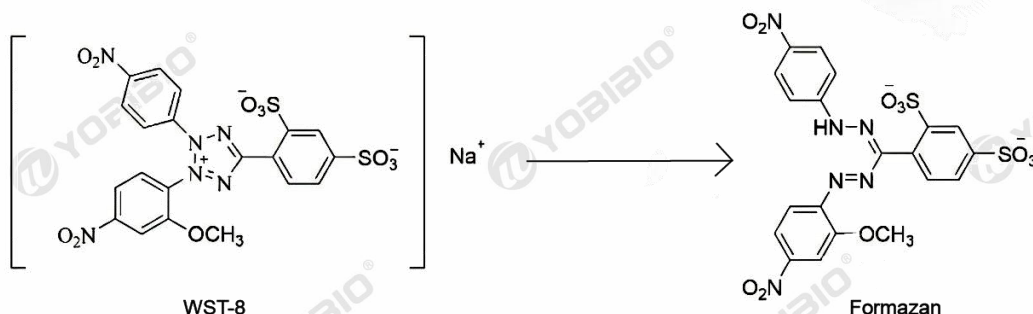


图 1. CCK-8 检测原理图

本试剂盒可以用于细胞增殖检测, 也可以用于细胞毒性检测, 或细胞生长抑制检测。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。酚红和血清对本试剂盒的测定无明显影响。

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, 使检测时间更加灵活, 便于找到最佳测定时间。

按照每个样本需要 10 μ l CCK-8 试剂, 5 ml 规格的本试剂盒可以测定 500 个样品, 5 $\times$ 5 ml 规格可以测定 2500 个样品, 10 $\times$ 5ml 规格可以测定 5000 个样品, 25 $\times$ 5ml 规格可以测定 12,500 个样品。



产品规格：

产品名称	货号	规格	保存条件
Cell Counting Kit (CCK-8) 试剂盒	U31-661A	5ml	4℃
Cell Counting Kit (CCK-8) 试剂盒	U31-662A	5×5ml	4℃
Cell Counting Kit (CCK-8) 试剂盒	U31-662A	10×5ml	4℃
Cell Counting Kit (CCK-8) 试剂盒	U31-662A	25×5ml	4℃

使用说明：

- 1、接种对数期的细胞至 96 孔板，接种数量 $1-5 \times 10^3$ 个/孔，每孔 100 μ l，每组设置 3-5 个复孔，置于 37℃培养箱培养；
- 2、待细胞贴壁后，加入不同浓度的药物处理细胞，置于培养箱中孵育一定的时间（如 24h、48h、72h）；
- 3、每孔加入 10 μ l 的 CCK-8 试剂，轻轻混匀，置于 37℃培养箱中孵育 1-4h（大多数细胞孵育 1h 即可，具体孵育时间根据细胞类型和细胞密度等实验情况决定，可进行预实验确定孵育时间）；
- 4、将孵育后的细胞培养板置于酶标仪上，在 450nm 处检测其吸光值。

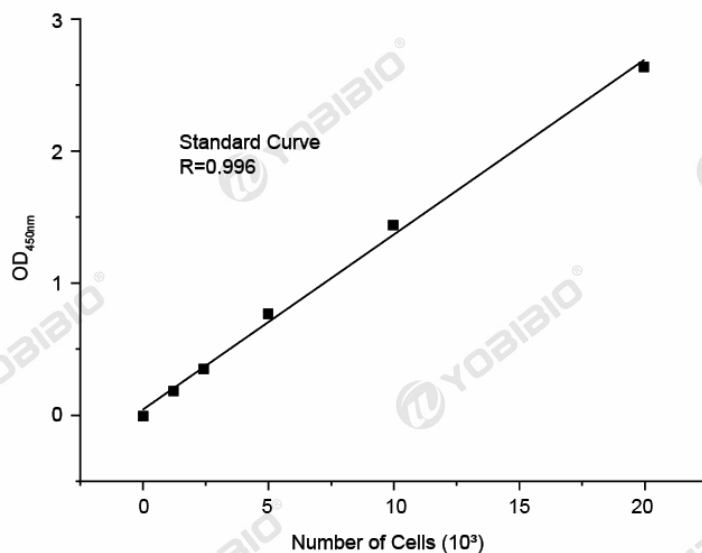


图 2. 本产品检测不同数量 HeLa 细胞的效果图

（HeLa 细胞按 1.25×10^3 - 2×10^4 个/孔的密度梯度接种至 96 孔板中，待细胞完全贴壁后，每孔加入 10 μ l 的 CCK-8 试剂，轻轻混匀，37℃培养箱孵育 1h 后，在 450nm 处检测其吸光值，并绘制标准曲线。）



注意事项:

- 1、使用前先将低温保存的试剂在室温条件下放置 20-30min。
- 2、接种对数期生长的细胞，注意使细胞分散均匀，确保每个复孔中的细胞数量一致，减少误差。
- 3、为了达到最佳的实验效果，建议先进行预实验，确定最佳的细胞接种密度及 CCK-8 试剂孵育时间。以贴壁细胞为例，接种密度约 $1-5 \times 10^3$ 个/孔；孵育时间为 1-4h，多数细胞孵育约 30min 即可观察到明显的颜色变化。
- 4、设置空白对照，在无细胞的培养基中加入 CCK-8 检测，去除本底对吸光值的干扰。
- 5、如果 OD 值太高，建议降低细胞接种密度或减少 CCK-8 试剂孵育时间；如果 OD 值太低，建议增加细胞接种密度或延长 CCK-8 试剂孵育时间。
- 6、使用 96 孔板进行 CCK-8 检测时，如果细胞培养时间较长，要注意 96 孔板蒸发问题。可以在待检测细胞的周围一圈孔中加相同量的 PBS、水或培养液，同时把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方以缓解蒸发。
- 7、本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，所以还原剂的存在会干扰检测，如果待检测体系中存在较多的还原剂，需要设法提前去除。
- 8、用酶标仪检测前要确保 96 孔板内没有气泡，否则会影响检测结果。
- 9、本产品仅作体外科研使用，不可用于临床诊断或治疗。
- 10、实验员请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

保存方法:

4℃保存，一年有效；-20℃保存，两年有效。

使用范围:

仅限科研使用，不能应用于临床。

