

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-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）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 在电子耦合剂 1-Methoxy PMS 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水溶性的甲臞（formazan，参考图 1），生成的甲臞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。

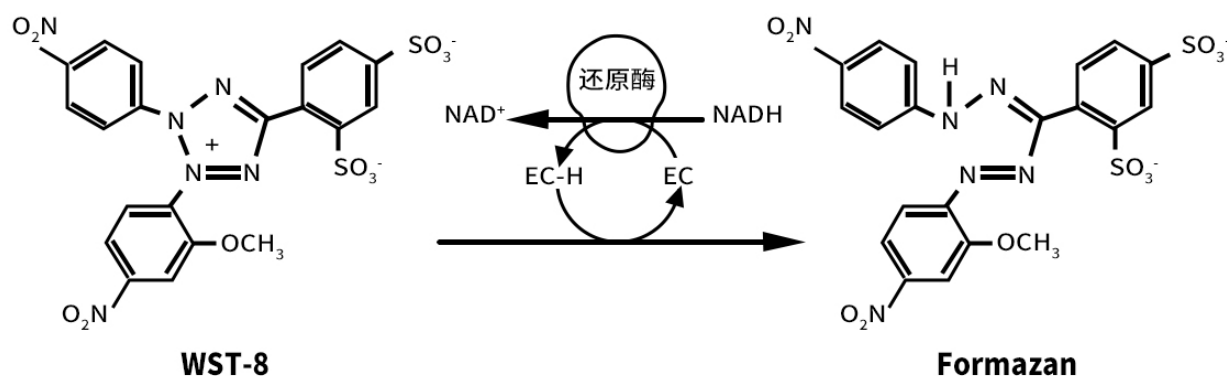


图 1：WST-8 分子结构及检测原理

订购信息

产品名称	货号	规格
CCK-8 试剂盒 (Cell Counting Kit-8)	FB29236	500T
CCK-8 试剂盒 (Cell Counting Kit-8)	FB29236	2*500T
CCK-8 试剂盒 (Cell Counting Kit-8)	FB29236	20*500T

运输与保存

蓝冰运输。4℃短期保存；-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

- 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。
- 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。
- 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）。
- 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液（注意不要产生气泡，轻轻混匀）。
- 将培养板在培养箱内孵育适当时间（一般 0.5~2 h）。
- 酶标仪测定 450 nm 处的吸光值。

注意事项

- 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。

CCK-8 法的优势

检测方法	MTT 法	XTT 法	WST-1 法	CCK-8 法
产品性状	粉末	2 瓶溶液	溶液	1 瓶溶液
使用方法	配成溶液后使用	现配现用	即开即用	即开即用
检测灵敏度	高	很高	很高	高
检测时间	较长	较短	较短	最短
检测波长	560-600nm	420-480nm	420-480nm	430-490nm
细胞毒性	高，细胞形态完全消失	很低，细胞形态不变	很低，细胞形态不变	很低，细胞形态不变
试剂稳定性	一般	较差	一般	很好
批量样品检测	可以	非常适合	非常适合	非常适合
便捷程度	一般	便捷	便捷	非常便捷