

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 细胞增殖与活性检测试剂盒

货号：QC1207

规格：5ml (500T)

产品简介

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 细胞增殖与活性检测试剂盒的主要成分为水溶性四唑盐 WST-8 (2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二硝基苯)-2H-四唑单钠盐), WST-8 在电子耦合试剂 1-Methoxy PMS 存在的情况下能够被还原成橙黄色水溶性的甲臞 (formazan)。WST-8 被细胞内脱氢酶生物还原后生成的甲臞能够直接溶解在培养基中, 生成的甲臞量与活细胞数量成线性相关 (图1)。

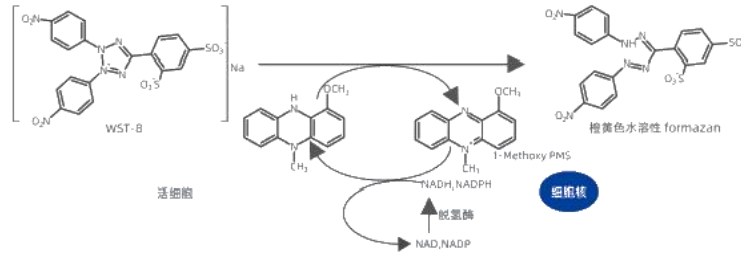


图 1 . WST-8 分子结构式及其检测原理

保存条件

CCK-8 溶液在避光、0-5℃ 的条件下可以保存1年, 如长期不用可在-20℃ 下避光保存2年。如需经常使用请将试剂存放在0-5℃。为防止背景值增加, 干扰实验结果, 请勿反复冻融。

自备材料仪器

1. 10 μ L、100 μ L、200 μ L 等移液器
2. 酶标仪 (450nm 滤光片)
3. 96孔或其它规格培养板
4. CO₂ 培养箱

使用方法：(以96孔板为例, 其它规格培养板请按实际情况安排)

1. 在96孔板中接种细胞悬液 (100 μ L/孔)。将96孔板放在培养箱预培养 (在37℃, 5%CO₂ 的条件下)。
2. 向每孔加入10 μ L 的CCK-8 溶液 (注意不要在孔中生成气泡, 它们会影响OD值的读数)。
3. 将培养板在培养箱内孵育1-4小时 (具体时间需要预实验测定)。
4. 用酶标仪测定在450nm 处的吸光值, 如无450nm 滤光片, 可以使用420-480nm 的滤光片。如果样品为高浑浊度的细胞悬液, 可以使用600nm 以及大于600nm 的波长作为参考波长进行双波长测定。
5. 如果需要暂时不测定OD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。可选择96孔板外围一圈不计入实验, 这些孔可加入培养基、水或 PBS, 同时可以把96孔板置于靠近培养箱内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 (参考数值: 细胞增殖实验每孔2,000 cells/100 μ L, 细胞毒性实验每孔5,000 cells/100 μ L)。
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。
4. 加CCK-8 溶液时, 速度要快, 减少残留, 同时请斜贴着孔壁, 不要插到培养基液面下, 避免产生气泡干扰OD 数值。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。
5. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应, 如果待检测体系中存在还原剂, 请通过预实验决定是否要去掉。
6. 加入CCK-8 时, 如果细胞培养时间较长, 培养基颜色已变化或pH 值变化, 建议换用新鲜的培养基。
7. 本试剂盒系无菌灌装生产。在使用过程中, 请在超净台内无菌操作, 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者乳胶手套操作。