

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 细胞活性检测试剂盒

产品简介

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 细胞活性检测试剂盒是一种广泛应用于细胞增殖和细胞毒性相关实验的快速、高灵敏度检测试剂盒。

CCK-8 的主要成分为水溶性四唑盐 [Water Soluble Tetrazolium-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), Water Soluble Tetrazolium-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水溶性的甲臞 (Formazan, 参考图 1)。

Water Soluble Tetrazolium-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。活细胞的数目越多, 则颜色越深。对于同样的细胞, 颜色的深浅和细胞数目呈线性关系。

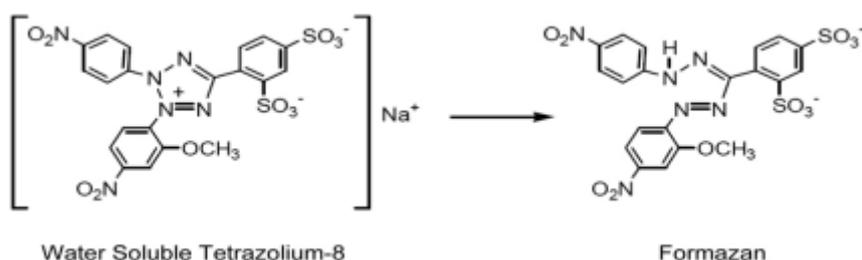


图 1. Water Soluble Tetrazolium-8 分子结构及 CCK-8 检测原理

产品组成

名称 编号	NBS1157	NBS1157	NBS1157	Storage
CCK-8 细胞活性检测试剂盒	5ml (500T)	10ml (2x500T)	50ml (10x500T)	+4 至-20℃
使用说明书	1 份			

产品特点

本试剂盒提供了一种灵敏度高、操作简便、使用安全的细胞增殖与活性检测方法。与传统的 MTT 法相比具有明显的优势:

(1) MTT 法生成的甲臞不是水溶性的, 需要使用 DMSO 等有机溶剂溶解; 而 CCK-8 产生的甲臞是水溶性的, 省去了溶解步骤, 因此减少了该操作步骤带来的实验误差。

(2) 由于 CCK-8 产生的甲臞是水溶性的, 无需吸掉培养基后, 再用 DMSO 等有机溶剂溶解, 非常适合用于悬浮细胞的活性测定。

(3) 与 MTT 方法相比, CCK-8 法线性范围更宽, 灵敏度更高。

(4) CCK-8 法对细胞无毒性, 可以多次测定, 选取最佳测定时间。

(5) CCK-8 法无需配制, 即开即用。

(6) CCK-8 法适合大规模、高通量的样品检测。

储存条件

本试剂盒在在-20℃至少可以保存 3 年, 4℃保存 1 年, 避免反复冻融。

本产品经测试: 5 次左右的反复冻融, 对产品质量几乎没有任何影响。

使用方法

- (1) 在 96 孔板中配制 100 μ L 的细胞悬液。将培养板在培养箱预培养 24 小时（在 37 $^{\circ}$ C，5% CO₂ 的条件下）。
- (2) 向培养板加入 10 μ L 的待测药物进行处理。
- (3) 根据实验需要，将培养板在培养箱孵育一段时间（例如：6，12，24 或 48 小时）。

【注】：如果不进行药物处理而直接测定细胞的活性，则不需要 2-3 步骤，直接从第 4 步操作。

- (4) 向每孔加入 10 μ L 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）。
- (5) 将培养板在培养箱内孵育 2-4 小时。用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

如果暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 10 μ L 1% SDS (w/v) 溶液或者 0.1 M HCl 溶液，并盖上培养板盖子，在室温条件下避光保存。24 小时内吸光度不会发生变化。

注意事项：

- 1) 由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发，周围一圈建议不用，改加 PBS 或水。
- 2) CCK-8 检测细胞活性的原理是通过检测活细胞脱氢酶催化的反应。如果待测体系中存在还原剂（例如一些抗氧化剂），可能会干扰检测结果，需设法去除其影响。
- 3) 当使用标准 96 孔板时，贴壁细胞的最小接种量至少为 1,000 个/孔（100 μ L 培养基）。检测白细胞时的灵敏度相对较低，因此推荐接种量不低于 2,500 个/孔（100 μ L 培养基），且加入 CCK-8 后孵育的时间长一些。
- 4) 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。
- 5) 酚红和血清对本试剂盒的测定无明显影响。培养基中酚红的吸光度可以在计算时，通过扣除只含有培养基的对照孔中本底的吸光度而消除，因此不会对检测结果造成影响。