

Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型 CCK-8 试剂盒)

产品编号	产品名称	包装
R32254-100T	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型 CCK-8 试剂盒)	100T
R32254-500T	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型 CCK-8 试剂盒)	500T
R32254-1000T	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型 CCK-8 试剂盒)	1000T
R32254-2500T	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型 CCK-8 试剂盒)	2500T
R32254-10000T	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型 CCK-8 试剂盒)	10000T

产品简介:

Enhanced Cell Counting Kit-8, 简称增强型 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。

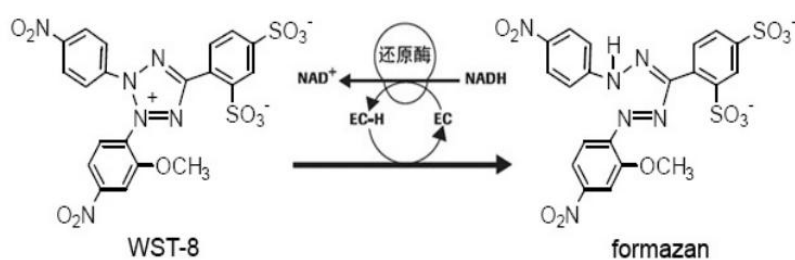


图1. WST-8检测原理图 (EC=electron coupling reagent, 即电子耦合试剂)

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。首先, MTT 被线粒体内的一些脱氢酶还原生成的 formazan 不是水溶性的, 需要有特定的溶解液来溶解; 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。其次, WST-8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解。再次,



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

WST-8 比 XTT 和 MTS 更加稳定, 使实验结果更加稳定。另外, WST-8 和 MTT、XTT 等相比线性范围更宽, 灵敏度更高。

WST-8 和 WST-1 相比, 检测灵敏度更高, 更易溶解, 并且更加稳定。

本试剂盒可以用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测, 也可以用于抗癌药物等对细胞有毒试剂诱导的细胞毒性检测, 或一些药物诱导的细胞生长抑制检测。

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 的增强型 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。加入增强型 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。

产品组成:

产品编号	产品名称	包装
R32254-100T	增强型 CCK-8 溶液	1ml
R32254-500T	增强型 CCK-8 溶液	5ml
R32254-1000T	增强型 CCK-8 溶液	10ml
R32254-2500T	增强型 CCK-8 溶液	25ml
R32254-10000T	增强型 CCK-8 溶液	100ml
—	说明书	1 份

保存条件:

-20°C 保存, 12 个月有效。

注意事项:

本由于使用 96 孔板进行检测, 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。



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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。

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。

使用说明：

1. 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。

2. 每孔加入 10 微升增强型 CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200 微升，则需加入 20 微升增强型 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增强型 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、药物和增强型 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。

3. 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。

4. 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。

5. 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 微升的增强型 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。

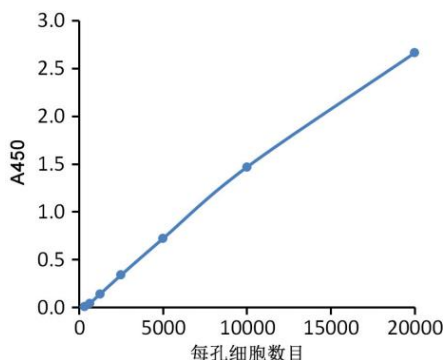


图 2. 增强型 CCK-8 试剂盒测定不同数量 HeLa 细胞的检测效果图。实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

常见问题：

1. 增强型 CCK-8 溶液对细胞的毒性大小如何？

增强型 CCK-8 溶液对细胞的毒性非常低，和普通的 CCK-8 溶液相当或者毒性更低，通常观察不到细胞毒性。细胞在 CCK-8 法检测后仍然可以正常生长，并可以用于其它的细胞实验。但为了避免增强型 CCK-8 溶液可能带来的对于后续检测的影响，除非该细胞极难获得，否则不推荐把增强型 CCK-8 溶液孵育过的细胞用于其它实验。

2. 如果吸光度值太低，可以采取什么办法？

- 适当增加细胞数量。
- 延长加入增强型 CCK-8 溶液后的孵育时间。