

## Cell Counting Kit (CCK 试剂盒)

目录号	产品名称	包装
DE5001-100T	Cell Counting Kit (CCK 试剂盒)	100Tests/1ml
DE5001-500T	Cell Counting Kit (CCK 试剂盒)	500Tests/5ml
DE5001-1000T	Cell Counting Kit (CCK 试剂盒)	1000Tests/10ml
DE5001-3000T	Cell Counting Kit (CCK 试剂盒)	3000Tests/30ml

### 产品简介:

- Cell Counting Kit 简称 CCK 试剂盒, 为 MTT 法的替代方法, 是一种基于 WST(水溶性四唑盐, 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)的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏度检测试剂盒。
- 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。

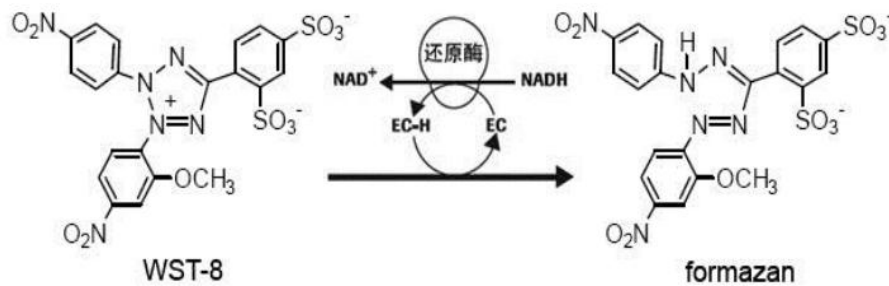


图 1. WST-8 检测原理图 (EC=electron coupling reagent, 即电子耦合试剂)

### CCK 法与 MTT 法之间的比较:

细胞计数方法	MTT 法	CCK 法
形成的 formazan 的水溶性	差	好
产品性质	粉末	溶液
使用方法	预先配制	无需预先配制
检测时间	> 4 小时	1~4 小时
灵敏度		灵敏度更高
检测波长	560~600nm	430~490nm
细胞毒性	高, 细胞形态完全消失	低, 细胞形态不变
试剂稳定性	一般	好
是否需要 DMSO 溶解	需要	不需要
便捷程度	一般	非常便捷

### 保存条件:

4°C 避光保存一年有效, -20°C 避光保存两年有效。

### 注意事项:

- 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。
- 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、通常在 96 孔板中, 细胞增殖实验和细胞毒性实验分别接种细胞悬液(5000 个细胞和 2000 个细胞/100 $\mu$ L/孔, 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)。设置加了相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。
- 2、细胞贴壁 24 小时后, 按照实验需要, 进行培养并给予 0-10 微升特定的药物刺激。
- 3、药物处理 2~4 天, 然后每孔加入 10  $\mu$ L 的 CCK 溶液(注意不要在孔中生成气泡, 它们会影响 OD 值的读数)。
- 4、将培养板在培养箱内孵育 1~4 小时, 然后用酶标仪测定在 450nm 处的吸光度。
- 5、如果暂时不测定 OD 值, 打算以后测定的话, 可以向每孔中加入 10  $\mu$ L 0.1M 的 HCL 溶液或者 1% w/v SDS 溶液, 并遮盖培养板避光保存在室温条件下。在 24 小时内吸光度不会发生变化。
- 6、培养基中酚红的吸光度可以在计算时, 通过扣除空白孔中本底的吸光度而消去, 因此不会对检测造成影响。

### 活力计算:

细胞活力\*(%)=[A(加药)-A(空白)]/[A(0 加药)-A(空白)] $\times$ 100

A(加药): 具有细胞、CCK 溶液和药物溶液的孔的吸光度

A(空白): 具有培养基和 CCK 溶液而没有细胞的孔的吸光度

A(0 加药): 具有细胞、CCK 溶液而没有药物溶液的孔的吸光度

**\*细胞活力: 细胞增殖活力或细胞毒性活力**