

Instructions

Rhinogen[®] CCK-8 细胞活性检测染料

适用于各种活性因子的细胞活性检测、高通量抗肿瘤药物筛选、细胞增殖试验、细胞毒性试验以及药敏试验等。

产品货号：QDY-003-C，QDY-003-D

目 录

目 录	1
试剂包装与保藏条件	2
包装规格	2
保藏温度	2
产品综述	3
概述	3
产品优点	3
产品间对比	3
操作方法	4
制作标准曲线	4
细胞活性检测	4
细胞增殖-毒性检测	4
设备与材料	4
联系我们	5
参考文献	5

试剂包装与保藏条件

包装规格

Rhinogen® CCK-8 细胞活性检测染料试剂的包装规格如下：

货号	包装量	使用次数
QDY-003-C	25ml	2500 孔
QDY-003-D	100ml	10000 孔

保藏温度

Rhinogen® CCK-8 细胞活性检测染料在避光 0-5℃ 的条件下可以存放 18 个月，在 -20℃ 条件下可以储藏更久。



反复冻融会增加背景值，干扰实验测定。

如需经常使用，请进行分装或存放在 0-5℃ 的条件下。

产品综述

概述

Rhinogen[®] CCK-8 细胞活性检测染料试剂中含有 WST-8: 化学名: 2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺酸苯)-2H-四唑单钠盐, 它在电子载体 1-甲氧基-5-甲基吩嗪硫酸二甲酯 (1-Methoxy PMS) 的作用下被细胞线粒体中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的黄色甲贖产物 (Formazan)。

生成的甲贖物的数量与活细胞的数量成正比。用酶联免疫检测仪在 450nm 波长处测定其光吸收值, 可间接反映活细胞数量。该方法已被广泛用于一些生物活性因子的活性检测、大规模的抗肿瘤药物筛选、细胞增殖试验、细胞毒性试验以及药敏试验等。

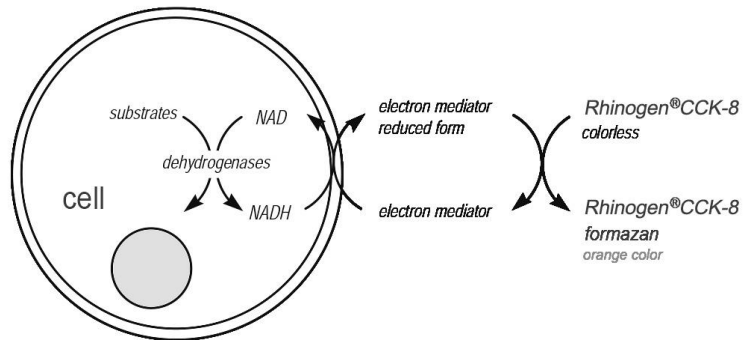


图 1 Rhinogen[®] CCK-8 细胞活性检测的原理

产品优点

Rhinogen[®] CCK-8 法与普通的 MTT 法相比, 具有显著特点:

- 灵敏度高, 数据可靠, 重现性好;
- 操作简便, 省时省力;
- 水溶性, 不需要换液, 尤其适合于悬浮细胞;
- 无需放射性同位素和有机溶剂, 对细胞毒性低;
- 为 1 瓶溶液, 毋需预制, 即开即用;
- 适合于高通量药物筛选。

产品间对比

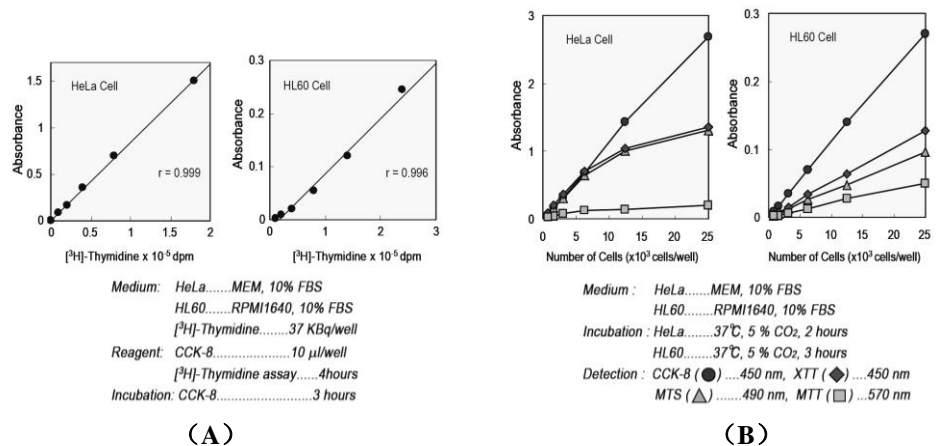


图 2 A: Rhinogen[®] CCK-8 法与³H-thymidine 掺入法之间的相关性图
B: CCK-8 与其他试剂灵敏度比较

操作方法

制作标准曲线

- 计数所制备细胞悬液中的细胞数量。
- 按比例（例如：1/2）依次用培养基等比稀释成一个细胞浓度梯度，一般要做 3-5 个细胞浓度梯度，每组 3-6 个复孔。
- 接种后培养 2-4 小时使细胞贴壁，然后加 Rhinogen® CCK-8 试剂培养一定时间后测定 OD 值，制作出一条以细胞数量为横坐标（X 轴），OD 值为纵坐标（Y 轴），的标准曲线。根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量（使用此标准曲线的前提条件是实验的条件要一致，便于确定细胞的接种数量以及加入 Rhinogen® CCK-8 后的培养时间）。

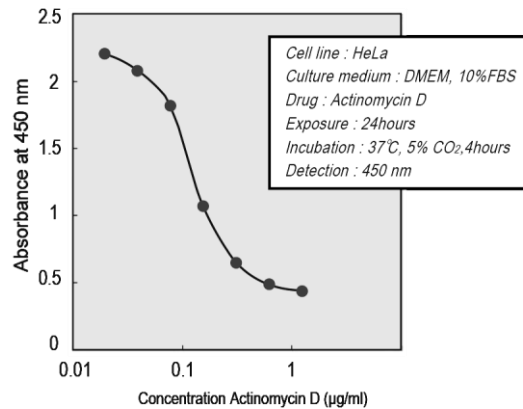


图 3：细胞毒性试验

细胞活性检测

- 在 96 孔板中接种细胞悬液（100 µl/孔）。将培养板放在培养箱预培养（在 37°C，5%CO₂ 的条件下）。
- 向每孔加入 10 µl 的 Rhinogen® 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）。
- 将培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。
- 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

细胞增殖-毒性检测

- 在 96 孔板中配制 100µl 的细胞悬液。将培养板放在培养箱预培养 24 小时。
- 向培养板加入 10µl 不同浓度的待测物质。将培养板在培养箱内孵育一段适当时间。
- 向每孔加入 10µl 的 Rhinogen® CCK-8 溶液。
- 将培养板在培养箱内孵育 1~4 小时。用酶标仪测定在 450nm 处的吸光度。



Important

如果暂时不测定 OD 值，可向每孔中加入 10 µl 0.1M HCl 溶液或 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。

设备与材料

- 10ul、100-200ul 以及多孔道移液器；
- 带有 450nm 滤光片的酶标仪；
- 96 孔培养板；
- 二氧化碳培养箱；

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话: [+86 \(0\)21-60878333-8093](tel:+86(0)21-60878333-8093)
 - 技术支持: bio@titansci.com
-

参考文献

-
1. Mosmann T. et al., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983, 65: 55–63.
 2. Nakamura J. et al., Quantitation of intracellular NAD(P)H can monitor an imbalance of DNA single strand break repair in base excision repair deficient cells in real time. *Nucleic Acids Res*. 2003 Sep 1;31(17):e104.
 3. Voth DE. et al., Bacillus anthracis oedema toxin as a cause of tissue necrosis and cell type-specific cytotoxicity. *Cell Microbiol*. 2005 Aug;7(8):1139-49.
 4. Yokoe S. et al., The Asn418-linked N-glycan of ErbB3 plays a crucial role in preventing spontaneous heterodimerization and tumor promotion. *Cancer Res*. 2007 Mar 1;67(5):1935-42.
 5. Weidner M. et al., Influence of T-2 and HT-2 toxin on the blood-brain barrier in vitro: new experimental hints for neurotoxic effects. *PLoS One*. 2013;8(3):e60484.
 6. Choi SW. et al., Anti-osteoclastogenic activity of matairesinol via suppression of p38/ERK-NFATc1 signaling axis. *BMC Complement Altern Med*. 2014 Jan 21;14:35.
 7. Feng Y. et al., microRNA-99a acts as a tumor suppressor and is down-regulated in bladder cancer. *BMC Urol*. 2014 Jun 23;14:50.
 8. Pei CS. et al, Influence of Curcumin on HOTAIR-Mediated Migration of Human Renal Cell Carcinoma Cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(10):4239-43.
-