

CVTK 细胞增殖与毒性检测试剂盒

用户手册

Cell Vitality Test Kit

User Manual

产品简介:

- CVTK试剂盒，为MTT法的替代方法，是一种基于WST-8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1-Methoxy PMS存在的情况下，可以被还原生成橙黄色水溶性的甲贲（Formazan）（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。
- 用途：可用于细胞增殖检测、细胞毒性检测、药物筛选、肿瘤药敏试验等。

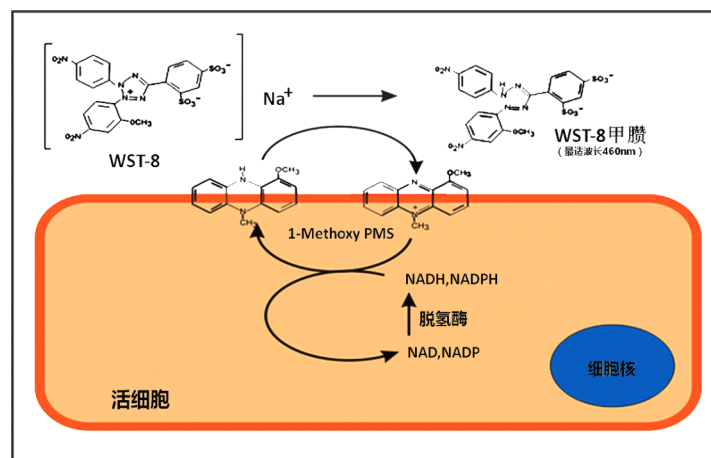


图 1. WST-8 分子结构式及其检测原理

本产品仅供研究使用

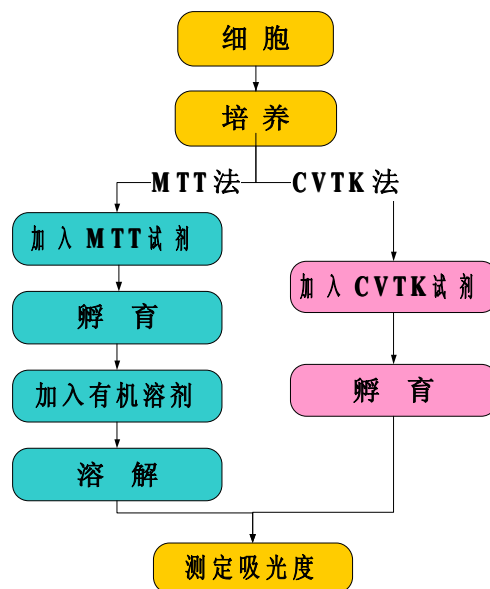
This product is for research use only. Not for human or diagnostic use.



产品优势:

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毒性检测方法。与传统的 MTT 法相比具有明显的优势:

- 即开即用, 无需预配, 无需放射性同位素和有机溶剂;
- 实验步骤少, 操作简单, 省时省力;
- 产物水溶性, 无需换液, 尤其适合于悬浮细胞;
- 灵敏度高, 数据可靠, 重复性好;
- 对细胞毒性低, 可多次测定选取最佳测定时间, 线性范围更宽;
- 适合高通量药物筛选;



产品包装:

产品货号	规格	数量
D002-1	50 次	0.5ml×1 管
D002-2	100 次	1ml×1 管
D002-3	500 次	1ml×5 管
D002-4	10000 次	25ml×4 瓶

贮藏条件:

CVTK 溶液在避光、2-4℃ 的条件下可以保存 1 年, 若长期不用可在 -20℃ 下避光保存 2 年。建议分装后保存于 -20℃, 使用时提前于 4℃ 解冻, 请避免反复冻融。



所需的设备及耗材:

- 10ul、100-200 ul 以及多通道移液器
- 酶标仪（带有 450 nm 滤光片）
- 96 孔培养板
- CO₂ 培养箱

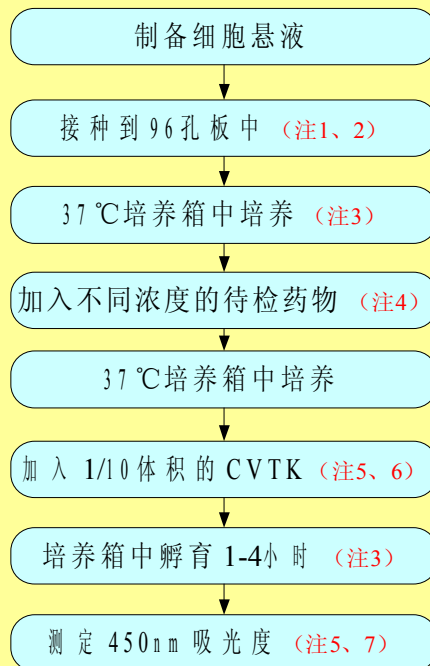
使用方法:

1. 在96孔板中接种细胞悬液 (100 ul /孔), 通常细胞增殖实验每孔约2000个细胞, 细胞毒性实验每孔约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调整。
2. 若进行细胞毒性实验, 按照实验需要培养并给予0-10ul特定的药物刺激, 处理一段适当的时间。若进行细胞增殖实验, 则跳过此步, 直接加入CVTK进行检测。
3. 每孔加入10ul CVTK溶液。如果起始的培养体积为200ul, 则需加入20ul CVTK溶液, 以此类推。可以用加相应量细胞培养基和CVTK但不加细胞的孔作为空白对照, 若担心所使用的药物会干扰检测, 需设置加相应量细胞培养液、药物和CVTK溶液但不加细胞的孔作为空白对照。
4. 在细胞培养箱内继续孵育1-4小时, 具体时间可以通过预实验确定。预实验时可以在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适宜的一个时间点用于后续实验。
5. 用酶标仪测定在450 nm处的吸光度, 若无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, 可以使用大于600nm的波长, 例如650nm, 作为参考波长进行双波长测定。
6. 如果需要暂时不测定O.D值, 可以向每孔中加入10ul 0.1M HCl溶液或者1% w/v的SDS溶液, 室温下避光保存, 24小时内吸光度不会发生变化。

细胞增殖检测流程:



细胞毒性检测流程:



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。可将 96 孔板外围一圈加培养基、水或 PBS 保湿。同时，可以把 96 孔板置于培养箱内靠近水盘的位置以缓解蒸发。
2. 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。
3. 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 CVTK 试剂后的培养时间。
4. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应，如果待测物质有氧化性或还原性，可在加 CVTK 之前更换新鲜培养基，去掉药物的影响。若药物影响比较小的情况可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入药物后的空白吸收即可。
5. 加入 CVTK 后请前后左右轻轻晃动培养板数次，使培养基和 CVTK 充分混匀。
6. 加入 CVTK 时，如果细胞培养时间较长，培养基颜色或 pH 值已变化，建议换用新鲜的培养基。
7. 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。