

## Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)

产品编号	产品名称	包装
C0049S	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100次
C0049M	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	500次
C0049L	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	2500次

### 产品简介:

- 碧云天研发生产的Cell Counting Kit-3D, 简称CCK-3D试剂盒或CCK3D试剂盒, 是一种基于WST系列生色底物用于3D细胞活力、增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度检测的试剂盒。本试剂盒适用于在450nm左右测定吸光度, 通常约1小时即可完成检测。
- 传统的细胞培养大多以二维(Two-Dimensional, 2D)的形式进行, 随着研究的深入, 科学家们发现2D培养的细胞在生长方式、生长形态、细胞结构、细胞分化和生物学功能等方面都与体内生理条件下的细胞存在明显差异, 进而可能造成实验结果和体内的真实情况存在较大偏差[1-3]。三维(Three-Dimensional, 3D)细胞培养技术能够更好地模拟生物体内细胞生存的微环境, 细胞也可以保持其正常的生物学功能, 能更好模拟体内组织, 也能更真实地反映细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于在体内的情况, 3D细胞培养从而成为更好的体外细胞实验模型, 能够获得与体内实验更加相近或一致的实验结果[4-5]。
- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞, 其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气, 而3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少, 形成自然的营养和氧气梯度, 能更好地模拟体内微环境条件, 因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤, 更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究, 也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时, 2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性, 在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性, 出现优势克隆选择性, 从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型, 3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更为可信的研究结果, 简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今, 3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统, 并成为生命科学最热门的领域之一。
- 随着3D细胞培养技术的日益成熟, 3D细胞培养技术已经成为非常常用的研究工具, 也越来越受欢迎, 在基础研究和药物发现等中的应用越来越广泛, 而3D培养条件下的细胞活性检测也成为一大难点。
- WST系列生色底物, 例如WST-1、WST-8等, 是一系列类似于MTT的化合物, 在电子耦合剂存在的情况下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成橙黄色的formazan。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。本试剂盒经过多方面的反复优化, 通过测定formazan的吸光度就可以非常高效、线性、准确地测定3D细胞球的总体细胞活力。
- 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。本试剂盒用于3D培养的HCT-116和MOLM-13细胞活性检测效果参见图1。

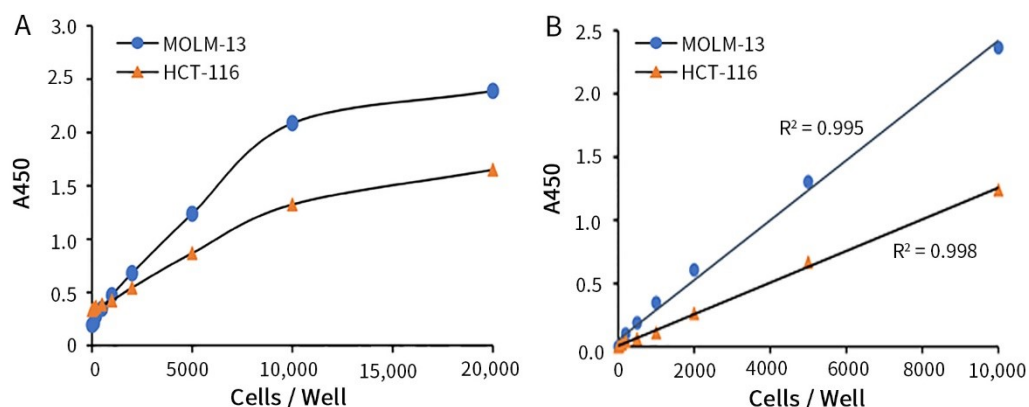


图1. 碧云天Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒) (C0049)对不同数量MOLM-13和HCT-116细胞在3D细胞培养48小时后的检测效果图。不同数量的HCT-116和MOLM-13细胞100 $\mu$ l每孔接种于康宁®球体微孔板(Corning® 96-well Black/Clear Round Bottom Ultra-Low Attachment Surface Spheroid Microplate, Cat.4515/4520)进行3D培养, 培养48小时后每孔各加入本产品10 $\mu$ l, 孵育1小时后测定A450, 在1万个细胞内信号强度与细胞数之间的线性较好, 细胞数量超过1万、或者孵育时间超过1小时后可能会不呈现线性关系, 但信号值还是会继续升高。实测数据会因具体实验条件的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本试剂盒检测非常便捷。试剂盒仅一管已经配制好的CCK-3D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。
- 本产品对细胞无明显毒性。加入CCK-3D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。
- 本产品不仅适合少量样品的检测，也非常适合大量样品的高通量筛选(High-throughput screening)检测，可用于各种培养方法培养出的含细胞培养液的3D细胞球，包括细胞悬滴培养板、超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板等。
- 碧云天同时提供CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒(C0061/C0062)，该试剂盒是通过化学发光法测定细胞内ATP含量从而用于超高灵敏度、高信号稳定性定量检测3D培养细胞总体活性。
- 按照96孔板每孔100μl细胞需要10μl CCK-3D溶液，本试剂盒每1ml可以进行100次检测。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C0049S	CCK-3D溶液	1ml
C0049M	CCK-3D溶液	5ml
C0049L	CCK-3D溶液	25ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20°C避光保存，一年有效。

#### 注意事项：

- 本试剂盒反复冻融会降低检测效果。尽管经测试本试剂反复冻融3次对于其检测效果无显著影响，为取得良好的使用效果，第一次解冻后可适当分装保存。反复冻融过程中，可能会出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。
- 温度的高低会影响信号强度和信号稳定性，反应前细胞和CCK-3D溶液均需平衡至室温后再进行测定，可将CCK-3D溶液在不超过25°C的室温或20-25°C的水浴中融解并混匀后使用。
- 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。
- 3D细胞在96孔板中一般成球状体存在，加入CCK-3D溶液后形成的橙黄色formazan也聚集在细胞球上及周边，检测前需要轻轻拍动96孔板使formazan均匀分布于细胞培养液中，否则测定的信号值可能会偏差，从而影响检测结果的准确性。
- 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。
- 检测时仅需使用普通透明的96孔板或384孔板。也可使用专为3D培养的超低吸附培养皿或多孔板培养好3D细胞后，转移至普通透明的多孔板中进行检测。碧云天提供各种超低吸附培养皿或多孔板，详见相关产品。
- 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. 对于96孔板，通常细胞增殖实验每孔加入100μl 2000个细胞，细胞毒性实验每孔加入100μl 5000个细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球状体的大小等确定，同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照，按照3D细胞培养方案培养细胞。如有需要，可加入药物处理细胞。
2. 每孔加入10μl CCK-3D溶液。如果起始的培养体积为200μl，则需加入20μl CCK-3D溶液，其它情况以此类推。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CCK-3D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0.5-3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、1.5、2和3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. 轻轻拍动96孔板、混匀孔内橙黄色的formazan，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。

#### 常见问题：

##### 1. CCK-3D溶液对细胞的毒性大小如何？

CCK-3D溶液对细胞的毒性非常低，通常观察不到细胞毒性。细胞在CCK-3D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CCK-3D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CCK-3D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CCK-3D溶液后的孵育时间。

## 参考文献:

- Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybyła W, Zajączkowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
- Riedl A, Schleder M, Pudielko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
- Hoarau-Véchet J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181.
- Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
- Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0049S	Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100次
C0049M	Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	500次
C0049L	Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	2500次
C0061S	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	100次
C0061M	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	500次
C0061L	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	2500次
C0062S	CellTiter-Lumi™ II发光法3D细胞活力检测试剂盒	100次
C0062M	CellTiter-Lumi™ II发光法3D细胞活力检测试剂盒	500次
C0062L	CellTiter-Lumi™ II发光法3D细胞活力检测试剂盒	2500次
C0371	Matrix-Gel™基质胶(标准型,含酚红)	1/5/10ml
C0372	Matrix-Gel™基质胶(标准型,不含酚红)	1/5/10ml
C0375	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子,含酚红)	1/5/10ml
C0376	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子,不含酚红)	1/5/10ml
C0382	Matrix-Gel™基质胶(高浓度,含酚红)	1/5/10ml
C0383	Matrix-Gel™基质胶(高浓度,不含酚红)	1/5/10ml
C0386	Matrix-Gel™基质胶(高浓度,低生长因子,含酚红)	1/5/10ml
C0387	Matrix-Gel™基质胶(高浓度,低生长因子,不含酚红)	1/5/10ml
C0391	Matrix-Gel™基质胶(干细胞专用,含酚红)	1/5/10ml
C0392	Matrix-Gel™基质胶(干细胞专用,不含酚红)	1/5/10ml
C0395	Matrix-Gel™基质胶(类器官专用,含酚红)	1/5/10ml
C0396	Matrix-Gel™基质胶(类器官专用,不含酚红)	1/5/10ml
FULA061-1pc	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA061-5pcs	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖,独立包装)	5个/盒
FULA061-20pcs	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖,独立包装)	20个/箱
FULA122-1pc	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA122-5pcs	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖,独立包装)	5个/盒
FULA122-20pcs	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖,独立包装)	20个/箱
FULA243-1pc	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA243-5pcs	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖,独立包装)	5个/盒
FULA243-20pcs	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖,独立包装)	20个/箱
FULA485-1pc	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA485-5pcs	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖,独立包装)	5个/盒
FULA485-20pcs	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖,独立包装)	20个/箱
FULA961-1pc	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA961-6pcs	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖,独立包装)	6个/盒
FULA961-24pcs	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖,独立包装)	24个/箱
FULA962-1pc	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA962-6pcs	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖,独立包装)	6个/盒
FULA962-24pcs	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖,独立包装)	24个/箱
FULA963-1pc	BeyoGold™超低吸附白色透明底96孔板(平底带盖,独立包装)	1个/盒
FULA963-6pcs	BeyoGold™超低吸附白色透明底96孔板(平底带盖,独立包装)	6个/盒

FULA963-24pcs	BeyoGold™超低吸附白色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	24个/箱
FULA965-1pc	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1个/盒
FULA965-6pcs	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	6个/盒
FULA965-24pcs	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	24个/箱
FULA981-1pc	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1个/盒
FULA981-6pcs	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	6个/盒
FULA981-24pcs	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	24个/箱
FULA983-1pc	BeyoGold™超低吸附白色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	1个/盒
FULA983-6pcs	BeyoGold™超低吸附白色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	6个/盒
FULA983-24pcs	BeyoGold™超低吸附白色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	24个/箱
FULA985-1pc	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	1个/盒
FULA985-6pcs	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	6个/盒
FULA985-24pcs	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	24个/箱
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FCP962	BeyoGold™ 96孔细胞培养板	50个/箱
FCP963-8pcs	BeyoGold™白色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP963-48pcs	BeyoGold™白色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱
FCP965-8pcs	BeyoGold™黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP965-48pcs	BeyoGold™黑色透明底96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱
FCP966-10pcs	BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	10个/盒
FCP966-80pcs	BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒
FCP966-320pcs	BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒, 320个/箱
FCP968-10pcs	BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	10个/盒
FCP968-80pcs	BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒
FCP968-320pcs	BeyoGold™全白96孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	80个/盒, 320个/箱
FCP981-8pcs	BeyoGold™ 384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP981-48pcs	BeyoGold™ 384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱
FCP983-8pcs	BeyoGold™全白384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP983-48pcs	BeyoGold™全白384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱
FCP985-8pcs	BeyoGold™全黑384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP985-48pcs	BeyoGold™全黑384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱
FCP986-8pcs	BeyoGold™白色透明底384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP986-48pcs	BeyoGold™白色透明底384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱
FCP987-8pcs	BeyoGold™黑色透明底384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	8个/盒
FCP987-48pcs	BeyoGold™黑色透明底384孔细胞培养板(平底带盖, 独立包装)	48个/箱

Version 2023.02.21