CCK8 试剂盒

(细胞增殖及毒性检测试剂盒)

产品编号：M006

包装规格：100T/500T/2500T/10000T

产品简介

CCK-8 试剂盒，为 MTT 法的替代方法，是一种基于水溶性四唑盐，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，可用于药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定、肿瘤药敏等试验。

CCK-8 试剂含有 WST-8，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。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。

WST-8 对细胞无明显毒性。加入 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。

试剂盒组成

组分	100T	500T	2500T	10000T
CCK8	1mL	5mL	25mL	100mL

保存： 4℃避光保存，有效期 12 个月。

注意事项

- ✓ 本产品仅限于科学研究使用。
- ✓ 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套和口罩操作。
- ✓ 培养基中酚红的吸光度可以在计算时，通过扣除空白孔(具有培养基和 CCK-8 溶液而没有细胞的孔)的本底吸光度而消去，因此不会对检测造成影响。
- ✓ 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 CCK-8 试剂后的培养时间。
- ✓ 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。
- ✓ 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。加入 CCK-8 后请前后左右轻轻晃动培养板数次，使培养基和 CCK-8 溶液充分混匀。
- ✓ 加入 CCK-8 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。
- ✓ 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 CCK-8 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光度即可。

操作说明

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液(100 μL/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决定)。
2. 按照实验需要，进行培养并给予 0-10μL 特定的药物刺激，并孵育一段时间(例如:6、12、24 或 48 小时)。
3. 向每孔加入 10μL CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200μL，则需加入 20μL CCK-8 溶液，以此类推。
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。
5. 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光值，若无 450nm 滤光片，可以使用 420-480nm 的滤光片，但是 450nm 检测灵敏度最高。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 10μL 0.1M HCl 溶液或者 1% w/v 的 SDS 溶液，避光保存在室温，24 小时内吸光度不会发生变化。

实验结果分析：

细胞活力 = [OD(加药) - OD(空白)] / [OD(0 加药) - OD(空白)] ×100%

抑制率 = [OD(0 加药) - OD(加药)] / [OD(0 加药) - OD(空白)] ×100%

OD(加药)：具有细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液的孔的吸光值

OD(空白)：具有培养基、CCK-8 溶液，没有细胞的孔的吸光值

OD(0 加药)：具有细胞、培养基、CCK-8 溶液，没有药物溶液的孔的吸光值

常见问题解答

1. CCK-8 检测后，细胞是否可用于其他实验？

CCK-8 溶液对细胞的毒性非常低，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 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 CCK-8 溶液孵育 过的细胞用于其它实验。

2. 吸光度值太低

a. 适当增加细胞数量；

b. 延长加入 CCK-8 溶液后的孵育时间。