

CCK8试剂盒

货号：ZY-CT001

产品介绍

CCK-8 试剂盒 (Cell Counting Kit-8) 是一种基于 WST-8 的快速、高灵敏度细胞活性检测的试剂盒，广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的检测。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水溶性甲臜化合物。细胞增殖越多越快，则颜色越深；细胞毒性越大，则颜色越浅。对于同种类型细胞，颜色深浅与细胞数量在一定限度内呈线性关系。

本试剂盒为即用型溶液，无需再行配制，可直接用于 96 孔板细胞实验，省略了细胞洗涤与收集等步骤。该试剂盒可用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测，也可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。

产品组成

名称	100T	500T	1000T	10*500T	10*1000T
CCK-8 溶液	1mL	5mL	10mL	10*5mL	10*10mL

保存

2-8℃，避光保存，有效期 1 年。

操作步骤（仅供参考）

一、制作标准曲线

1. 先用细胞计数板计数所制备的细胞悬液中的细胞数量，然后接种细胞。



2. 按比例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。

3. 接种后培养至细胞贴壁，然后加 CCK-8 溶液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。

4. 根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量（试用此标准曲线的前提是实验的条件要一致，便于确定细胞的接种数量以及加入 CCK-8 后的培养时间。）

二、细胞活性检测

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液（100 μ L/孔）。将培养板放在培养箱中预培养（在37 $^{\circ}$ C，5% CO₂的条件下）。

2. 向每孔加入 10 μ L 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）。

3. 将培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。

4. 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 μ L 0.1M 的 HCl 或者 1% SDS(W/V) 溶液，并遮盖培养板在室温条件下避光保存。在 24 小时内吸光度不会发生变化。

三、细胞增值-毒性检测

1. 在 96 孔板中配置 100 μ L 的细胞悬液。将培养板置于培养箱预培养 24 小时（在37 $^{\circ}$ C，5% CO₂的条件下）。

2. 向培养板加入 10 μ L 不同浓度的待测物质。在培养箱孵育一段时间（例如：6、12、24 或 48 小时）。

3. 向每孔加入 10 μ L 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）。如果待测物质有氧化性或还原性的话，可在加 CCK-8 溶液之前更换新鲜培养基（除去培养基，并用培养基洗涤细胞两次，然后加入新的培养基），去掉药物影响。



4. 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。

5. 如果暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 10 μ L 0.1M 的 HCl 或者 1% SDS(W/V)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。

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-8 溶液和药物溶液的孔的吸光度

A (空白)：具有培养基和 CCK-8 溶液而没有细胞的孔的吸光度

A (0 加药)：具有细胞、CCK-8 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

注意事项

1. 本试剂颜色应为粉红色，如果发现溶液变黄应弃用。

2. 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。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。

3. 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。

4. 建议先做几个孔摸索接种细胞的数量和加入 CCK-8 试剂后的培养时间，白细胞可能培养时间较长。

5. 当使用标准 96 孔板时，贴壁细胞的最小接种量至少为 1000 个/孔 (100 μ L 培养基)。检测白细胞时的灵敏度相对较低，因此推荐接种量不低于 2500 个/孔 (100 μ L 培养基)。如果要使用24孔板或6孔板实验，请先计算每孔相应的接种量，并按照每孔培养基总体积的 10%加入 CCK-8 溶液。



6. 如果没有 450nm 的滤光片，可以使用吸光度在 430-490nm 之间的滤光片，但是450nm检测灵敏度最高。

7. 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。

