



Cell Counting Kit-8 试剂盒

产品简介:

Cell Counting Kit-8, 简称 CCK-8 试剂盒, 是一种基于 WST-8 而广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度、无放射性的比色检测试剂盒。CCK-8 溶液可以直接加入到细胞样品中, 不需要预配各种成分。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 (参考图 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 (生成的 formazan 量) 和细胞数目呈线性关系 (图 2)。

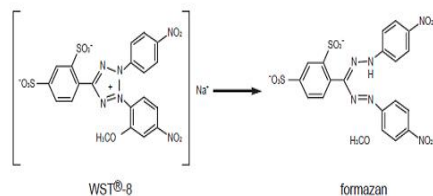


图1. WST®-8和WST®-8甲腈的结构

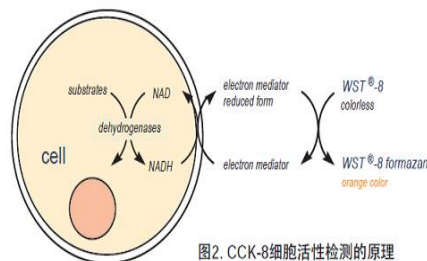


图2. CCK-8细胞活性检测的原理

储存条件及有效期:

4℃一年; -20℃两年
长期保存, 建议避光

产品规格:

货号	规格
PCDBE011	100T/1ml
PCDBE012	500T/5ml
PCDBE013	1000T/10ml
PCDBE014	3000T/5ml*6

操作说明:

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。

1. 制作标准曲线:

- 1.1 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;
- 1.2 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 5-7 个细胞浓度梯度, 每组 4-6 个复孔;
- 1.3 接种后培养 2-4 小时使细胞贴壁, 然后每 100 μ L 培养基加 10 μ L CCK-8 试剂培养一定时间后测定 OD 值, 以细胞数量为横坐标, OD 值为纵坐标, 制作标准曲线。根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量。

2. 细胞活性检测:

- 2.1 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 24 小时;
- 2.2 向每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液 (注意不要产生气泡);
- 2.3 将培养板置于培养箱内孵育 1-4 小时;
- 2.4 酶标仪 450 nm 处测定吸光度。

3. 细胞增殖-毒性检测:

- 3.1 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 24 小时;

上海磐超生物科技有限公司

上海市闵行区沈杜公路 3872 号源发展 F 楼 C401 室 电话: 021-31550304

邮箱: techsupport@pc-biotech.com 网址: www.pc-biotech.com

- 3.2 向培养板加入不同浓度的待测药物;
- 3.3 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间;
- 3.4 向每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液 (注意不要产生气泡);
- 3.5 将培养板置于培养箱内孵育 1-4 小时;
- 3.6 酶标仪 450 nm 处测定吸光度。

4. 计算公式细胞存活率:

$$=[(As-Ab)/(Ac-Ab)] \times 100\% \text{抑制率}=[(Ac-As)/(Ac-Ab)] \times 100\%$$

As:实验孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液);

Ac:对照孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液, 不含药物);

Ab:空白孔吸光度 (含培养基、CCK-8 溶液, 不含细胞、药物)。

注意事项:

1. CCK-8的培养时间一般为1-4小时, 但在培养30分钟左右即可取出肉眼观察显色程度, 根据细胞种类而定, 需要摸索条件, CCK-8的最佳反应时间以具体显色的最佳时间为准。
2. 用96孔板进行检测时, 如果细胞培养时间较长, 一定要注意蒸发问题。
3. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应, 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. 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。
5. 加入药物中如含有金属化合物或金属螯合物, 对CCK-8显色有影响。
6. 培养基中的酚红不会影响实验结果, 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除。
7. 本产品可以检测*Ecoli*, 但不能检测酵母细胞。向100 μ L培养液中加入 10 μ L CCK-8溶液, 并培养 1-4 小时或过夜。
8. CCK-8试剂对细胞的毒性非常低。它和活细胞内的脱氢酶持续反应使溶液颜色不断加深

9. CCK-8检测时, 建议同时测定细胞的具体数量, 做标准曲线。

10. 建议采用多通道移液器, 以减小平行孔间的差异。

11. 以下方法可以终止CCK-8反应(96 孔板):

11.1. 在显色反应后, 将培养板放置4° C冰箱内。

11.2. 每孔加10 μ L的0.1M HCl溶液。

11.3. 每孔加10 μ L的1% (w/v)SDS (十二烷基硫酸钠) 溶液。

(注意: 反应停止后, 应在 24 小时内测定。)

12. 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。

13. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

上海磐超生物科技有限公司

上海市闵行区沈杜公路 3872 号孵源发展 F 楼 C401 室 电话: 021-31550304

邮箱: techsupport@pc-biotech.com 网址: www.pc-biotech.com