

CCK-8 法细胞增殖检测试剂盒

产品包装

4℃避光保存 1 年

产品编号	产品名称	100 次	500 次	1000 次	3000 次
YFXCA01	CCK-8 法细胞增殖检测试剂盒	1ML	5ML	10ML	30ML

产品介绍

翼飞雪 CCK-8 (Cell Counting Kit) 试剂盒是一种基于 WST-8 的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速灵敏试剂盒。

WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子耦合试剂 1-Methoxy PMS 存在的条件下, 可被还原生成橙黄色水溶性甲臞 (Formazan), 细胞增殖越快越多, 甲臞溶液颜色越深, 细胞毒性越大, 甲臞溶液颜色越浅。对于同样的细胞, 颜色的深浅和细胞的数目呈线性关系。

翼飞雪 CCK-8 检测试剂盒可适用于绝大多数细胞系和实验环境。

自备耗材

- 1、10ul、20-200ul 枪头及多通道移液器。
- 2、带有 450nm 滤片的酶标仪。
- 3、96 孔培养板, CO₂ 培养箱。

操作步骤

1、制作标准曲线 (测定细胞具体数量时)

- 1.1 先用细胞计数板计数所制备的细胞悬液的细胞数量, 然后接种细胞。
- 1.2 按比例 (如 1:2 的比例) 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)。
- 1.3 接种后培养 2-4 小时至细胞贴壁, 然后加 CCK-8 试剂培养一段时间后测定 OD 值, 制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。根据此标准曲线可以测定未知样品的细胞数量 (使用此标准曲线时务必要保持实验条件一致, 以便于确定细胞的接种数量以及加入 CCK-8 后的培养时间)。

2、细胞活性检测

- 2.1 在 96 孔板中按照 100μL/孔接种细胞悬液, 37℃ 5% CO₂ 条件下在细胞培养箱中预培养。
- 2.2 向每孔加入 10μL CCK-8 溶液 (注意孔中不要有气泡, 以防影响 OD 值的读数), 在细胞培养箱内继续培养 1-4 小时。
- 2.3 用酶标仪测定 450nm 处的吸光值。
- 2.4 如暂时不测定 OD 值, 可向每孔中加入 10μL 0.1M 的 HCl 溶液或者 1% W/V 的 SDS, 室温封闭避光保存, 24 小时内吸光值没有明显变化。

3、细胞增殖-毒性检测

- 3.1 在 96 孔板中配制 100μL 的细胞悬液, 37℃ 5% CO₂ 条件下在培养箱中预培养 24 小时。
- 3.2 向培养板中加入 10μL 不同浓度的待测物质, 在细胞培养箱内继续培养一段适当时间 (如 6、12、24、48 小时)。

3.3 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液（注意孔中不要有气泡，以防影响 OD 值的读数），把培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。

3.4 用酶标仪测定 450nm 出的吸光值。

3.5 如暂时不测定 OD 值，可向每孔中加入 10 μ L 0.1M 的 HCl 溶液或者 1% W/V 的 SDS，室温封闭避光保存，24 小时内吸光值没有明显变化。

活力计算

细胞活力 (%) = $[A(\text{加药}) - A(\text{空白})] / [A(0\text{加药}) - A(\text{空白})] \times 100$

A (加药)：具有细胞、CCK-8 溶液、药物溶液的孔的吸度

A (空白)：具有培养基和 CCK-8 溶液但没有细胞的孔的吸度

A (0 加药)：具有细胞和 CCK-8 溶液但没有药物溶液的孔的吸度

细胞活力：细胞增殖活力或者细胞毒性活力

注意事项

1. 如果待测物质有氧化性或者还原性，可以在加入 CCK-8 试剂之前更换新鲜培养基（除去培养基，并用新鲜培养基洗涤细胞两次，然后加入新鲜培养基），去掉药物影响。如药物影响比较小，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。
2. 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。
3. 有条件时建议使用多通道移液器，可以有效减少平行孔间的差异。加入 CCK-8 试剂时，建议斜贴培养板壁加入，而不要查到培养基下面加入，以避免产生气泡，干扰 OD 值读数。
4. 白细胞可能需要培养较长时间。
5. 当使用标准 96 孔板时，贴壁细胞的最小接种量至少为 1,000 个细胞/孔（100 μ L 培养基）。由于白细胞灵敏度相对较低，因此检测白细胞时最小接种量至少为 2,500 个细胞/孔（100 μ L 培养基）。如要使用 24 孔板或 6 孔板实验，应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 试剂。
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 滤光片的检测灵敏度最高。
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除，因此不会对检测结果造成影响。