

细胞增殖-毒性检测试剂盒

Cell Counting Kit-8 (CCK-8)

产品编号	产品名称	规格
BS350A	CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒	100T, 1 ml
BS350B	CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒	500T, 5×1 ml
BS350C	CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒	2500T, 25×1 ml
BS350D	CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒	10000T, 100 ml
BS350E	CCK-8 细胞增殖-毒性检测试剂盒	1000T, 1×10ml

产品简介:

CCK-8 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高灵敏度检测试剂盒。WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子耦合试剂 1-Methoxy PMS 存在的情况下, 可以被还原生成橙黄色水溶性的甲臞 (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。

使用方法:

1、在 96 孔板中接种细胞悬液(100 μ l /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 0-10 μ l 特定的药物刺激, 处理一段适当的时间(例如: 6, 12, 24 或 48 小时)。

3、每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200 μ l, 则需加入 20 μ l CCK-8 溶液, 以此类推。可以用加相应量细胞培养基和 CCK-8 但不加细胞的孔作为空白对照, 若担心所使用的药物会干扰检测, 需设置加相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但不加细胞的孔作为空白对照。

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。预实验时可以在 0.5、1、2 和 4 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。

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。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 10 μ l 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 = $[\text{OD}(\text{加药}) - \text{OD}(\text{空白})] / [\text{OD}(0 \text{ 加药}) - \text{OD}(\text{空白})] \times 100\%$

抑制率 = $[\text{OD}(0 \text{ 加药}) - \text{OD}(\text{加药})] / [\text{OD}(0 \text{ 加药}) - \text{OD}(\text{空白})] \times 100\%$

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

注意事项：

1、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。同时，可以把 96 孔板置于培养箱内靠近水盘的位置以缓解蒸发。

2、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。

3、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。

4、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收即可。

5、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。

6、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。

7、本试剂盒系无菌灌装生产。在使用过程中，请在生物安全柜内无菌操作，避免污染。

8、为了您的健康和安全，请穿着实验服并戴一次性手套或乳胶手套操作。

保存方法：

4℃ 保存，有效期一年，长期保存建议 -20℃ 保存，但不能反复冻融。