Genomeditech (Shanghai) Co., Ltd.
Order: +86 021-50432825/50432826
Email: service@genomeditech.com

V 1.0.0

Cell counting kit-8 CCK8

细胞增殖检测试剂盒

产品介绍：

Cell counting kit-8 CCK8 细胞增殖检测试剂盒是含有 WST-8（化学名：2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5-(2,4-二磺基苯)-2H-四唑单钠盐）化合物，用于细胞增殖检测的一类检测试剂盒。它的作用原理类似于 MTT，在电子耦合试剂作用下被细胞线粒体中的一些脱氢酶还原为具有高度水溶性的橙黄色甲臜（Formazan）。细胞增殖越快，生成的 Formazan 越多，则颜色就越深。用酶标仪在 450nm 波长处测定其光吸收值，可间接反映活细胞数量。Cell counting kit-8 CCK8 方法已被广泛应用于一些生物活性因子的活性检测、大规模的抗肿瘤药物筛选和细胞增殖试验等。

产品信息：

产品编号	产品名称	规格
GM-040101-1	Cell counting kit-8 CCK8 细胞增殖检测试剂盒	1 mL
GM-040101-2	Cell counting kit-8 CCK8 细胞增殖检测试剂盒	5 mL
GM-040101-3	Cell counting kit-8 CCK8 细胞增殖检测试剂盒	10 mL
GM-040101-4	Cell counting kit-8 CCK8 细胞增殖检测试剂盒	3 × 10 mL
GM-040101-5	Cell counting kit-8 CCK8 细胞增殖检测试剂盒	10 × 10 mL

保存条件：

冰袋运输。-25~-15℃避光干燥保存，有效期 2 年。

操作说明：

1. 细胞活性检测

1) 在 96 孔板中加入 100 μL 细胞悬液，将培养板放入细胞培养箱中培养（在 37℃，5% CO_2 的条件下）。

2) 向每孔中加入 10 μL CCK-8 溶液（比例是 10:1），同时设置空白对照孔。（注意不要在孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）

3) 放入细胞培养箱中培养 1-4 h，孵育时间的长短根据细胞的类型和细胞的密度而定，可以设计时间梯度，选择适宜的孵育时间。

4) 用酶标仪在 450 nm 波长处测定光吸收值。

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 μL 0.1 M 的 HCL 溶液或者 1% w/v SDS 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。

2. 细胞增殖-毒性检测

1) 在 96 孔板中加入 100 μL 的细胞悬液。将培养板在培养箱预培养 24 小时（在 37℃，5% CO_2 的条件下）。

2) 向培养板加入 10 μL 不同浓度的待测物质。

3) 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间（例如：6、12、24 或 48 小时）。

4) 每孔加入 10 μL CCK 溶液（注意不要再孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。

5) 将培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。

6) 用酶标仪在 450 nm 波长处测定光吸收值。

7) 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 μL 0.1M 的 HCL 溶液或者 1% w/v SDS 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）] ×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. 初次实验前，应对接种细胞数量和孵育时间进行摸索，找出最佳细胞数量和孵育时间。

2. 细胞接种均匀，培养板边孔的水分容易蒸发，因此只加 PBS 或培养基，以减少实验误差。

3. 检测主要依赖脱氢酶催化反应，如果待检测体系中存在较多的还原剂，可在加 CCK-8 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。当然药物影响比较小的情况下，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。

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