Cell Counting Kit-8 (CCK-8)

细胞计数试剂盒-8 (CCK-8 试剂盒)

制品内容

货号	名称	规格
QR2302-500T	Cell Counting Kit-8	1 × 5 mL
QR2302-1000T	Cell Counting Kit-8	2 × 5 mL

产品简介

细胞计数试剂盒-8（CCK-8）是一种即用型的单瓶溶液，可快速、可靠地测量各种化学物质对细胞存活率和毒性的敏感度。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。对于同样的细胞，颜色的深浅 (生成的甲臜量) 和细胞数目呈线性关系。

保存

4℃ 避光，稳定保存长达 12 个月；-20℃ 避光保存，可稳定长达 2 年。

用途

细胞增殖测定： Qiyun 细胞计数试剂盒-8 (CCK-8) 是水溶性的，在培养中是稳定的，并且是无毒的。

细胞活力测定：代谢活性和染料产生与改变的活力成比例地变化。

细胞因子测定：测量细胞因子诱导的增殖。如果需要，可以在研究结束时回收细胞并扩增。

细胞毒性测定：来自细胞毒性化学物质的细胞死亡对颜色发展没有影响，只有活细胞将试剂转化为比色指示剂。试剂本身具有可忽略的毒性，并且通常对细胞是安全的。

使用说明

1. 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 5-7 个细胞浓度梯度，每组 4-6 个复孔；

（3）接种后培养 2-4 小时使细胞贴壁，然后每 100 μL 培养基加 10 μL CCK-8 试剂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，OD 值为纵坐标的标准曲线。根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量。使用此标准曲线的前提条件是试验条件完全一致。

2. 细胞活性检测

（1）在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μL/孔) ，将培养板放在培养箱中预培养 24 小时；

（2）向每孔加入 10 μL的 CCK-8 溶液 (注意不要产生气泡)；

（3）将培养板置于培养箱内孵育 1-4 小时；

（4）用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

3. 细胞增殖-毒性检测

（1）在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μL/孔)，将培养板放在培养箱中预培养 24 小时；

（2）向培养板加入不同浓度的待测药物；

（3）将培养板在培养箱孵育一段适当的时间；

（4）向每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液 (注意不要产生气泡)；

（5）将培养板置于培养箱内孵育 1-4 小时；

（6）用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

计算公式

统计分析有几种方法，您可以选择使用 OD 值或细胞数量

细胞存活率 (%) =[(As-Ab) / (Ac-Ab)] × 100%

抑制率 (%) =[(Ac-As) / (Ac-Ab)] × 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）确保药物和 CCK-8 均匀分布在培养基中。

（2）对于贴壁细胞，每孔至少需要 1000 个细胞（100 μL 培养基）。对于白细胞，由于灵敏度较低，每孔至少需要 2500 个细胞（ 100 μl培养基）。推荐的 96 孔板每孔最大细胞数为25000，24 孔或 6 孔板相应计算并CCK-8 的体积，使其为每孔总液体体积的 10%。

（3）因为 CCK-8 测定是基于活细胞中的脱氢酶活性，影响脱氢酶活性的条件或化学物质可能导致实际活细胞数与使用 CCK-8 测定活细胞数之间有差异。

（4）WST-8 可能与还原剂反应生成 WST-8 formazan。若使用还原剂 (例如一些抗氧化剂) 会干扰检测，待检测体系中存在较多的还原剂，需设法去除。

（5）注意不要在孔中引入气泡，因为它们会干扰 OD 值。在读取平板之前，可以在摇床上轻柔混匀。

（6）如果您想对 CCK-8 溶液进行灭菌，请使用 0.2 μm 的膜过滤溶液。

（7）孵育时间因孔中细胞的类型和数量而异。通常，白细胞着色较弱，需要较长的孵育时间（长达 4 h）或大量细胞（~105细胞/孔）。

（8）若细胞悬液中存在高浊度，测量并减去样品在 600nm 或更高波长的 OD 值。

（9）CCK-8 不能用于细胞染色。

（10）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去。

（11）CCK-8 的毒性非常低，在 CCK-8 测定完成后，相同的细胞可用于其他细胞增殖测定，例如结晶紫测定，中性红测定或 DNA 荧光测定。（若细胞极为稀少则不推荐）

（12）我们建议将细胞接种在靠近培养板中央的孔中，最外围一圈孔中的培养基容易蒸发，可以用 PBS缓冲液、水或培养基填充这些孔。

（13）如果没有 450 nm 滤光片，也可以使用吸光度在 430 - 490 nm 之间的滤光片，450 nm 滤光片具有最佳灵敏度。如果需要进行双波长测定，作为参考波长可以测定 650 nm 处的吸光度。

（14）可以选择以下方法终止 CCK-8 反应 (96 孔板)：(1) 显色反应后，置于 4°C 冰箱；(2) 每孔加 10 μL 0.1 M HCl溶液；(3) 每孔加 10 μL 1% (w/v) SDS 溶液。

（15）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。

（16）为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。