

细胞增殖-毒性检测试剂盒

说明书

名 称	细胞增殖-毒性检测试剂盒
英 文	Cell Counting Kit-8 (CCK-8)
货 号	CSP047
规 格	500 孔, 5×1 ml
保 存	-20℃ 保存, 24 个月有效; 4℃ 保存, 12个月有效
用 途	仅供科研使用, 不得用于其它用途。

【产品描述】

CK-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臍 (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。

【操作步骤】 (仅供参考)

- 1、在 96 孔板中接种细胞悬液(100 ul /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 0-10ul 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 10ul CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200ul, 则需加入 20ul 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 OD 值, 可以向每孔中加入 10ul 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。
- 9、产品不能反复冻融。