

产品说明书

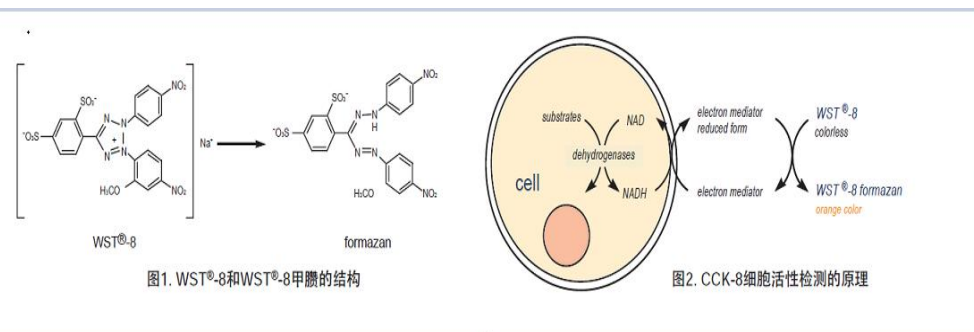
品名：CCK8 检测试剂盒

货号：CYT001-500/CYT001-3K

规格：500T (5ml) /3000T(5ml*6)

▶▶产品简介：

CCK-8 检测试剂盒，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 formazan (参考图 1)。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 formazan 量）和细胞数目呈线性关系（图 2）。



▶▶储存条件及有效期：

4℃一年；-20℃两年，长期保存务必避光保存。

▶▶产品规格：

货号	规格
CYT001-500	500T/5ml
CYT001-3K	3000T/5ml*6

▶▶操作说明：

本试剂盒可以用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测，也可以用于抗癌药物等对细胞有毒试剂诱导的细胞毒性检测，或一些药物诱导的细胞生长抑制检测。

1. 制作标准曲线：

1.1 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；

1.2 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；1.3 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，以细胞数量为横坐标，OD值为纵坐标，制作标准曲线。根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量。

2. 细胞活性检测：

2.1 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；

2.2 向每孔加入10 μL的CCK-8溶液(注意不要产生气泡)；

2.3 将培养板置于培养箱内孵育1-4小时；

2.4 酶标仪450 nm处测定吸光度。

3. 细胞增殖-毒性检测：

3.1 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；

3.2 向培养板加入不同浓度的待测药物；

3.3 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间；

3.4 向每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 溶液（注意不要产生气泡）；

3.5 将培养板置于培养箱内孵育 1-4 小时；

3.6 酶标仪 450 nm 处测定吸光度。

4. 计算公式细胞存活率：

$$= [(A_s - A_b) / (A_c - A_b)] \times 100\% \text{抑制率} = [(A_c - A_s) / (A_c - A_b)] \times 100\%$$

A_s : 实验孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液）；

A_c : 对照孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 溶液，不含药物）；

A_b : 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. CCK-8 的培养时间一般为 1-4 小时，但在培养 30 分钟左右即可取出肉眼观察显色程度，根据细胞种类而定，需要摸索条件，CCK-8 的最佳反应时间以具体显色的最佳时间为准。

2. 用 96 孔板进行检测时，如果细胞培养时间较长，一定要注意蒸发问题。

3. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，所以还原剂（例如一些抗氧化剂）会干扰检测，如果待检测体系中存在较多的还原剂，需设法去除。

4. 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。

5. 加入药物中如含有金属化合物或金属螯合物，对 CCK-8 显色有影响。

6. 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除。

7. 本产品可以检测 *E. coli*，但不能检测酵母细胞。向 100 μ L 培养液中加入 10 μ L CCK-8 溶液，并培养 1-4 小时或过夜。

8. CCK-8 试剂对细胞的毒性非常低。它和活细胞内的脱氢酶持续反应使溶液颜色不断加深。

9. CCK-8 检测时，建议同时测定细胞的具体数量，做标准曲线。

10. 建议采用多通道移液器，以减小平行孔间的差异。

11. 以下方法可以终止 CCK-8 反应(96 孔板)：

11.1. 在显色反应后，将培养板放置 4° C 冰箱内。

11.2. 每孔加 10 μ L 的 0.1M HCl 溶液。

11.3. 每孔加 10 μ L 的 1% (w/v) SDS（十二烷基硫酸钠）溶液。

（注意：反应停止后，应在 24 小时内测定。）

12. 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。

13. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。