



Product Number: BY-0103

本产品仅供科研使用

活性检测CCK-8细胞增殖与毒性检测试剂盒

Cell Counting Kit 简称 CCK，是 MTT 法的替代方法，是一种基于 WST[水溶性四唑盐，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]并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 在电子耦合试剂存在的情况下，可以被线粒体内的脱氢酶还原生成橙黄色的 formazan。细胞增殖越多，颜色越深；细胞毒性越大，颜色越浅。对于相同的细胞，颜色的深浅和活细胞数量成正相关。

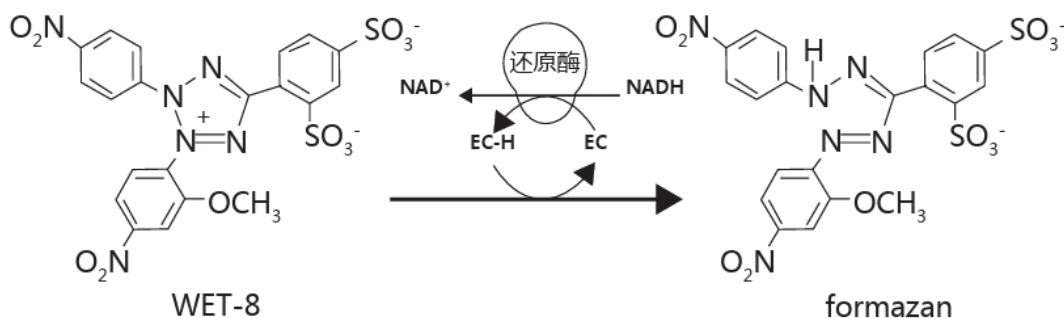


图 1 WST-8 分子结构及检测原理

使用方法

- (1) 在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μ L/孔)，将培养板在培养箱中预培养 24 小时；
- (2) 向培养板加入 10 μ L 不同浓度的待测物质；(如果仅测定细胞活性，则不需要 2-3 步骤，直接从第 4 步开始)
- (3) 将培养板在培养箱中孵育一段时间；
- (4) 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液 (注意不要生成气泡)；
- (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。

注意事项

(1) 建议调试合适的接种细胞的数量和加入 CCK-8 溶液后培养的时间。当使用标准 96 孔板时，贴壁细胞至少 1000 个/孔 (100 μ L 培养基)，白细胞至少 2500 个/孔 (100 μ L 培养基)。建议实验前设定几个不同细胞数量的梯度孔进行条件测试，细胞培养时间和处理方法根据实验情况而定，加入 CCK-8 溶液后 (加入体积为每孔细胞培养液体积的 10%)，在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中孵育，不同时间点后测 450nm 处的吸光值 (CCK-8 敏感性高，一些细胞 0.5h 后就可以测定第一次)。

(2) CCK-8 试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，如果待检测体系中有较多还原剂 (或抗氧化剂) 会造成背景 OD 值升高，干扰检测结果。如果实验中有还原剂，请检查背景 OD 值，设法先去除还原剂干扰。例如，可在加入 CCK-8 溶液之前更换新鲜的培养基，以去除待测药物的影响。当待测药物影响比较小时，可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入待测药物后的空白吸收即可。

(3) 进行药物抑制实验时，如果药物中含有金属，如 Pb^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等金属会对 CCK-8 Solution 的显色反应产生影响，从而导致检测的灵敏度降低。

(4) 如果细胞培养时间较长，培养基颜色发生变化，应洗涤细胞更换培养基后再加 CCK-8 检测。细胞培养基酚红不影响测定结果。

(5) 为使 CCK-8 试剂盒培养基充分混匀，减少 CCK-8 在移液器上的残留，建议加样前用培养基稀释 CCK-8 试剂，混匀后加样。

(6) 若暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 0.1M 的 HCL 溶液或者 1% w/v SDS 溶液，室温避光保存，24h 内检测，吸光度不会受到影响（加入 1% SDS 溶液的体积与加入 CCK-8 溶液的体积相同）。

(7) 如果吸光值很低，可以适当增加细胞数量或者延长加入 CCK-8 溶液后孵育的时间。

运输与储存

蓝冰运输，-20°C 保存，有效期 24 个月，请避免反复冻融。