

细胞增殖-毒性检测试剂盒

Cell Counting Kit-8(CCK-8)

本产品常温运输；2~8℃避光保存，保质期 12个月；在-20℃条件可以贮存更久。

货号规格

货号	规格
CX001S	1 mL(100次)
CX001M	5 mL(500次)
CX001	5 mL×5(2,500次)
CX001L	5 mL×20(10,000 次)

产品简介

本试剂盒可以对细胞增殖和细胞毒性进行快速、高灵敏度的检测，它的核心成分为一种水溶性四唑盐，在电子耦合试剂存在的条件下，这种四唑盐能够被线粒体内的脱氢酶还原生成橙黄色的水溶性甲臍染料。颜色越深，说明细胞增殖得越多越快，反之，则说明细胞毒性越大。对于相同的细胞，甲臍染料颜色的深浅与活细胞数目呈线性相关。

操作步骤

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预培养 24 h(在 37℃, 5% CO₂ 的条件下)；
注意：具体每孔所需的细胞数目,需根据细胞大小及增殖速度等因素来决定。
2. 每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液 (避免在孔中生成气泡, 以免影响 OD 值的读数)；
3. 将培养板置于培养箱内孵育 1~4 h；
4. 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度；
5. 如果暂时不测定 OD 值, 可向每孔中加入 10 μL 0.1 M 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 h 内吸光度不会发生变化。

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预培养 24 h(在 37℃, 5% CO₂ 的条件下)；
注意：具体每孔所需的细胞数目,需根据细胞大小及增殖速度等因素来决定。
2. 向培养板加入 10 μL 不同浓度的待测物质；
3. 将培养板置于培养箱内孵育适当的时长 (例如：6, 12, 24 或 48 h)；
4. 每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液 (避免加入时在孔中产生气泡, 以免影响 OD 值的读数)；
5. 将培养板置于培养箱内孵育 1~4 h；
6. 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度；

7. 如果暂时不测定 OD 值,可向每孔中加入 10 μ L 0.1 M 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 h 内吸光度不会发生变化。

注意: 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,去除药物的影响。当然如果药物影响比较小,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。

标准曲线制作

1. 使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(例如: 1/2 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 3~5 个细胞浓度梯度,每组 3~6 个复孔;
3. 接种后培养 2~4 h 使细胞贴壁,然后加入 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(X 轴),OD 值为纵坐标(Y 轴)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实验的条件要一致,便于确定细胞的接种数量以及加入 CCK-8 后的培养时间)。

注意事项

1. 初次实验时,建议先做几个孔摸索接种细胞的数量和加入 CCK-8 试剂后的培养时间;
2. 若细胞培养时间较长,培养基颜色发生变化或 pH 发生变化,建议更换新鲜的培养基后再加 CCK-8 试剂。含有酚红的培养基不影响本试剂盒做细胞活性的测定;
3. 如果样品为高浑浊度的细胞悬液,建议设定 600 nm(或 600 nm 以上)作为参比波长,扣除参比波长的 OD 值即可;
4. CCK-8 试剂对细胞的毒性极低,经 CCK-8 法检测后的细胞仍然可正常生长,但为避免 CCK-8 试剂可能对后续检测造成影响,不推荐将 CCK-8 试剂孵育过的细胞用于其它实验;
5. 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作;
6. 本产品仅限科研使用。