

CCK-8

(细胞增殖检测试剂)

产品编号	产品名称	规格	保存条件
FRC-03	CCK-8	100 T/1000T	4 °C 1 年
	说明书	1 份	

一、运输与存储。

本产品低温（冰袋）运输，4 °C 保存，有效期 1 年。

二、注意事项（实验前阅读）。

1. 若吸光度值偏低，则适当增加接种细胞数量，并延长 CCK-8 孵育时间。
2. 测定吸光度值前应确保每个孔内没有气泡，否则气泡会干扰测定，导致吸光度值异常。
3. 请测定 450 nm 处吸光度值，若无 450 nm 滤光片，可以使用 420-480 nm 的滤光片。
4. 若连续多次测定吸光度值，每次 CCK-8 孵育时间需一致，避免因孵育时间不同而导致吸光度值偏差。

三、产品简介。

Cell Counting Kit-8，简称 CCK-8，主要成份是四唑盐 WST-8，可以被线粒体内的脱氢酶还原生成水溶性的 formazan，其颜色深浅程度与细胞数量呈正比。因此，CCK-8 试剂常用于药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定、肿瘤药敏试验以及生物因子的活性检测等实验。

四、特点与优势。

1. 本试剂为增强型 CCK-8 检测试剂，灵敏度高，可以检测到的细胞数量下限为 1,000 个/孔。
2. 本试剂经脱氢酶作用产生水溶性的 formazan，使培养液变成橙黄色，可以直接测定其 OD 值。
3. 细胞毒性低，加入细胞培养液后，可以在不同孵育时间测定 OD 值，以便寻找最佳检测时间。

五、使用说明。

1. 细胞培养。胰酶消化法收集细胞，计数后重悬，加入 96 孔板，100 μ L/孔，并设置只加细胞培养液，不加细胞的孔，作为空白对照。每个实验组和空白对照组至少设置 3 个重复孔，以便测得的 OD 值可以做统计分析。
2. CCK-8 孵育。在细胞培养液中加入 CCK-8 试剂，10 μ L/孔，轻轻震荡，混匀，继续培养。

3. 吸光度值检测。CCK-8 加入后不同时间点 (0.5h, 1h, 2h), 利用酶标仪检测 450 nm 处吸光度值 (OD 值), 选取最佳 OD 值做统计分析。

4. 细胞存活率计算:

$$\text{细胞存活率 (\%)} = \frac{A(\text{加药}) - A(\text{空白})}{A(\text{对照}) - A(\text{空白})} \times 100$$

A(加药): 药物处理细胞的吸光度值

A(空白): 利用培养液作为空白对照孔的吸光度值。

A(对照): 正常生长细胞的吸光度值

六、效果鉴定。

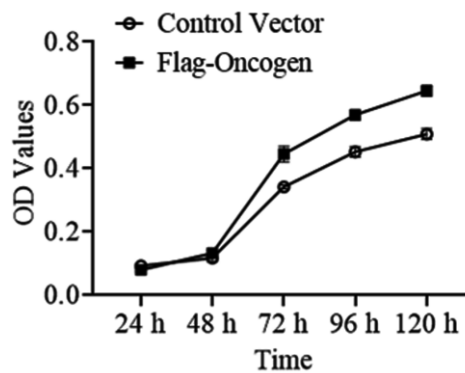


图 1. CCK-8 测定 RKO 细胞增殖。

七、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
OD 值偏低	细胞数量偏少	增加接种细胞数量。
	CCK-8 孵育时间偏短	延长 CCK-8 孵育时间。
OD 值偏高	细胞数量偏多	减少接种细胞数量。
	CCK-8 孵育时间偏长	缩短 CCK-8 孵育时间。
组间重复孔的 OD 值差异偏大	接种细胞数量不一致	使用排枪接种, 或提高细胞接种操作的一致性, 尽量保持接种的细胞数量一致。
	培养细胞出现堆积现象	接种后用力拍一拍细胞培养板, 使细胞均匀接种, 防止细胞堆积。
	CCK-8 添加不均匀	将 CCK-8 添加到培养液中, 防止挂在培养板的孔壁上, 导致添加不均匀。
	培养板边缘孔中培养液挥发导致体积不一致。	尽量不用培养板边缘的孔做检测。