

CCK-8 试剂盒(细胞增殖及毒性检测试剂盒)使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5103	Cell Counting Kit-8	100T/500T/1000T/10000T
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4℃ 避光保存一年有效，-20℃ 避光保存两年有效。

【概述】

Cell Counting Kit-8 试剂盒简称 CCK-8 试剂盒，可用于简便而准确的细胞增殖和毒性分析。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。因此可利用这一特性直接进行细胞增殖和毒性分析。该试剂主要用途有：药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定、肿瘤药敏试验。

【使用方法（仅供参考）】

1. 用细胞计数板计数所制备的细胞悬液中的细胞数量。通常细胞增殖实验每孔加入 100μl 2×10^3 个细胞，细胞毒性实验每孔加入 100μl 5×10^3 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，推荐进行预实验选择合适的细胞数量)。按照实验需要，进行培养并给予 0-10μl 特定的药物刺激。
2. 每孔加入 10μl CCK-8 溶液（如果起始的培养体积为 200μl，则需加入 20μl CCK-8 溶液，其它情况以此类推）。可以用加了相应体积细胞培养液和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。如果担心所使用的药物会干扰检测，需设置加了相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。
3. 在细胞培养箱内（37℃）继续孵育 0.5-4 小时，对于大多数情况孵育 1 小时即可。时间的长短根据细胞的类型和细胞的密度等实验情况而定，初次实验时可以在 0.5、1、2 和 4 小时时分别用酶标仪检测，然后选取吸光度范围比较适宜的时间点用于后续实验。
4. 在 450nm 测定吸光度。可以使用吸光度在 430-490nm 之间的滤光片，但是 450 nm 滤光片的检测灵敏度最高。

5. 计算方法

细胞存活率 = $[(As-Ab) / (Ac-Ab)] \times 100\%$

抑制率 = $[(Ac-As) / (Ac-Ab)] \times 100\%$ As: 实验孔(含有细胞的培养基、CCK-8、待测物质) Ac:

对照孔(含有细胞的培养基、CCK-8、没有待测物质)

Ab: 空白孔(不含细胞和待测物质的培养基、CCK-8)

【注意事项】

1. 初次实验可选择 3-5 个孔进行预实验选择合适的细胞数量。
2. 由于使用 96 孔板进行检测，如果细胞培养时间较长，一定要注意蒸发问题。一方面，由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发，可以采取弃用周围一圈的办法，改加相同量的 PBS、水或培养液；另一方面，可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方，以缓解蒸发。
3. 当有还原性物质存在时会影响 CCK-8 的测定，增加 OD 值；在有氧化性物质存在时会抑制测定反应的发生，减小 OD 值；在有酚红存在的情况下，会增加空白吸收，但不影响测定，扣除空白吸收即可。
4. 在做加药实验时，如果药物具有还原性，就会和 CCK-8 试剂发生显色反应，增加吸光度。解决办法：首先要确认药物是否有吸收，在含有药物的培养基中加入 CCK-8，测定 450 nm 的吸光度，如果它的吸光度比不含药物的培养基 (只加 CCK-8) 的吸光度高，则证明药物有影响，可在加 CCK-8 之前更换培养基，去掉药物的影响。
5. 如果测定的 OD 值太低可适当增加细胞数量或延长加入 CCK-8 溶液后的染色时间。
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. 仅用于实验室，不适合农业/家庭/临床用途使用。
8. 为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。