SuperKine™ 超敏型细胞增殖检测试剂（CCK-8）

Cat #: BMU106-CN Size: 200 T/1000 T/10000 T

官方网站 微信公众号

	超敏型细胞增殖检测试剂（CCK-8）		
REF	**货号：**BMU106-CN	LOT	**批号：**见产品标签
	保质期：4℃避光保存 12 个月，-20℃至少 24 个月		

原理

SuperKine™ 超敏型细胞增殖检测试剂（CCK-8）是基于高度水溶性的四唑盐 WST-8 来进行测定的。WST-8 在电子介体的作用下可被细胞中的脱氢酶还原生成水溶性甲瓒产物，产生颜色反应，其甲瓒产物为橙色，可溶于组织培养基中。CCK-8 是非放射性的，可在细胞增殖和细胞毒性实验中，对活细胞进行灵敏的比色测定，从而计算出细胞数量。细胞中脱氢酶产生的甲瓒产物的量与活细胞的数量成正比,可用于检测细胞增殖和细胞毒性。CCK-8 试剂检测灵敏度高于其他四唑盐（例如 MTT，XTT，MTS 或 WST-1）。

本产品经配方优化升级，显色反应效率与检测灵敏度显著提升，可大幅缩短孵育时长；最佳孵育时间受细胞类型、接种密度及代谢活性影响存在差异，建议首次使用时设置多时间梯度预实验，选取线性范围内适宜信号点开展后续检测。

包装清单

试剂盒组分	规格			储存条件
	200 T	**1000 T**	**10000 T**	
即用型 CCK-8 溶液	2 mL	10 mL	100 mL	4℃避光保存 12 个月，-20℃可长期保存，避免反复冻融。如果经常使用，请将试剂盒存放于 4℃

自备耗材

- 酶标仪（能测 450 nm 处的吸光值）及二氧化碳培养箱（37℃，5% CO_2）
- 96 孔细胞培养板，可调节式移液枪及枪头

试剂准备

即用型 CCK-8 溶液：即用型，无需预混合组分。

实验步骤

注意：正式实验前，做预实验确定合适的细胞数量和孵育时间。若 OD 值太高，可适当减少细胞数量、缩短加入 CCK-8 的孵育时间或减少 CCK-8 的上样量。一般情况下 OD 值在 0.1-2.0 都可以，在 1.0 附近比较好。一般可将对照孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 溶液，不含药物）的 OD 值控制在 0.8-1.0 左右，确定细胞的检测数量。

I 制作标准曲线

1. 先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；

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

2. 按比例依次用培养基等比稀释细胞，一般要做 5-7 个细胞浓度梯度，每组 4-6 个复孔；

3. 接种后培养贴壁细胞或悬浮细胞 0.2-4 h，每 100 μL 培养基加 10 μL CCK-8 试剂，培养一定时间后测定 OD450 值，制作出一条以细胞数量为横坐标，OD450 值为纵坐标的标准曲线。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试验条件完全一致。

II 细胞活性检测

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液（100 μL/孔），将板在培养箱中预先培养；
2. 在每孔中加入 10 μL CCK-8 溶液，注意不要将气泡引入孔中，因为它们会干扰 OD 值读取；
3. 在培养箱中将平板孵育 0.2-4 h；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；
4. 使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。

III 细胞增殖/毒性检测方案

1. 在 96 孔板中接种 100 μL 细胞悬液（5,000 个细胞/孔），将板在培养箱中预培养 24 h；
2. 在平板中加入 1-10 μL 各种浓度的待测物质；
3. 在培养箱中将平板孵育适当的时间（例如 6、12、24 或 48 h）；
4. 向板的每个孔中加入 10 μL CCK-8 溶液，注意不要将气泡引入孔中，因为它们会干扰 OD 值读取；
5. 在培养箱中将平板孵育 0.2-4 h；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；
6. 使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。

结果计算

细胞存活率=$[(A_s-A_b)/(A_c-A_b)]\times100\%$

抑制率=$[(A_c-A_s)/(A_c-A_b)]\times100\%$

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 对细胞的毒性相当低，因此细胞在 CCK-8 法检测后还可用于其他后续分析。
2. 如果 OD 值太低，可以采取适当增加细胞数量或者延长加入 CCK-8 后的孵育时间的办法。
3. 试剂盒依赖于脱氢酶催化的反应，影响活细胞中脱氢酶活性的条件或化学物质如还原剂会干扰检测。如果由于长期培养而改变了培养基的颜色或 pH，请在添加 CCK-8 时更换培养基。
4. 如果暂时不检测 OD 值，可以向每孔中加入 10 μL 0.1 M 的 HCl 或者 1% SDS（W/V)溶液，避光保存在 4℃条件，在 24 小时内吸光度不会发生变化。

结果展示

示例: 采用 96 孔板进行 CCK-8 检测。Hela、Jurkat 细胞接种密度均为 2×10^4 细胞/孔, 培养基体系 100μL/孔, 二氧化碳培养箱 (37℃, 5% CO_2）培养 2h，；每孔加入 10μLCCK-8 试剂，37℃、5% CO_2 条件下分别孵育 30 min、60 min，酶标仪检测 450nm 处的吸光值。

Hela：孵育 30min，OD450=1.3；孵育 60min，OD450=2.3

Jurkat：孵育 30min，OD450=0.3；孵育 60min，OD450=0.5

FAQ

1. 该产品比较敏感，偶有 OD 值偏高的现象，应该如何处理?

从三个方面进行调整：（1）用不同数目的细胞进行检测，制作标准曲线，确定合适的细胞数目；（2）缩短加入 CCK-8 的孵育时间；（3）减少 CCK-8 的上样量，使 CCK-8 稀释到合适浓度使用。

2. 如何判断本品的检测范围?

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.

建议用自己的不同的细胞个数先做标准曲线，根据稳定线性趋势，确定特定细胞的检测数量区间。

3. 细胞毒性实验如何设置？

有两种设置方式：（1）100 μL 细胞悬液中加入 1-10 μL 各种浓度的待测物质，孵育适当时间后，再加入体系中 10%的溶液；（2）先将待检测物质作用细胞一段时间后，再利用 CCK-8 检测细胞增殖情况。

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

Not for further distribution without written consent.Copyright © Abbkine, Inc.