

增强型细胞活力检测试剂盒 (CCK-8)

货号: P-CA-001

规格: 100Tests / 500Tests

产品编号	产品名称	100Tests	500Tests
P-CA-001	增强型CCK-8溶液	1 mL×1	1 mL×5
说明书		一份	

基本信息

产品性状 液体

敏感性 对光敏感

保存条件 2-8°C或-5~-20°C避光保存两年。

检测原理 WST-8 (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), 在电子载体存在的情况下, WST-8被线粒体内的脱氢酶还原生成水溶性的橙黄色formazan, 生成的formazan的量与活细胞数量成正比, 通过检测在450 nm处的吸光度, 可以间接计算活细胞的量。

实验操作指南

1. 取生长状态良好的细胞, 调整细胞密度, 按每孔100 μL细胞悬液接种于96孔板中, 同时设空白孔 (不加细胞但是加入同体积的培养基)。

注: 通常细胞增殖实验每孔加入100 μL约含2000个细胞, 细胞毒性实验每孔加入100 μL约含5000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决定)。

2. 根据实验设计对细胞进行培养和处理。
3. 每孔加入10 μL的CCK-8溶液。继续孵育1-4 h。

注: CCK-8孵育条件与细胞培养条件相同。

4. 用酶标仪测定在450 nm处的吸光度。
5. 结果计算:

$$\text{细胞存活率(\%)} = \frac{OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

[注]:

OD_{sample}: 实验孔的OD值



OD_{control}: 对照孔的OD值

OD_{blank}: 空白孔的OD值

注意事项

1. 本产品仅供科研使用。
2. 为了您的安全与健康，请穿戴实验室工作服和一次性手套进行操作，并遵守实验室试剂操作规程。
3. 长期保存请放-5~-20℃，常规使用建议2-8℃保存。避免反复冻融。
4. 细胞接种时注意混匀，避免细胞沉降导致每孔中细胞接种数量不一致。
5. CCK-8的孵育时间一般为1-4小时，建议预实验摸索最佳细胞接种数量和CCK-8孵育时间。
6. 培养基中的酚红不会影响实验结果，酚红的吸光度可以在计算时，通过扣除空白孔中本底的吸光度而消去，因此不会对检测造成影响。
7. 使用96孔板进行细胞培养时，需注意水分蒸发而带来的结果误差，建议弃用外围一圈的孔，改加同体积的PBS、水或细胞培养液，另外，也可将96孔板置于培养箱中靠近水源的地方，以减缓水分蒸发。
8. 酶标仪检测OD时，确保每一个孔内都没有气泡，否则会干扰测定。
9. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，所以还原剂(抗氧化剂)会干扰检测，如果待检测系统中存在还原剂，需设法除去。或者在加入CCK-8之前更换新鲜培养基，去掉待测药物的影响。
10. 加入药物中若含有金属，对显色有影响。终浓度为1 mM氯化亚铁、氯化铁、硫酸铜会抑制5%、15%、90%的显色反应，使灵敏度降低。如果终浓度是10 mM 的话，将会100%抑制。

