Solarbio
Beijing Solarbio Science & Technology Co., Ltd
Tel: 010-56371207
Fax: 010-56371281/82
Http://www.solarbio.cn

Cell Counting Kit（CCK 试剂盒）

目录号	产品名称	规格	包装
S025-100	Cell Counting Kit	100 次	1mL
S025-500	Cell Counting Kit	500 次	5mL
S025-1000	Cell Counting Kit	1000 次	10mL
S025-3000	Cell Counting Kit	3000 次	30mL

产品简介：

Cell Counting Kit 简称 CCK 试剂盒，为 MTT 法的替代方法，是一种基于 WST（水溶性四唑盐，化学名：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）的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏度检测试剂盒。

CCK 法与其它检测方法之间的比较：

细胞计数方法	MTT 法	XTT 法	WST-1 法	CCK 法
形成的 formazan 的水溶性	差	好	好	好
产品性状	粉末	2 瓶溶液	溶液	1 瓶溶液
使用方法	配成溶液后使用	现配现用	无需预制	无需预制
检测灵敏度	高	很高	很高	高
检测时间	较长	较短	较短	最短
检测波长	560-600nm	420-480nm	420-480nm	430-490nm
细胞毒性	高，细胞形态完全消失	很低，细胞形态不变	很低，细胞形态不变	很低，细胞形态不变
试剂稳定性	一般	较差	一般	很好
大批量样品检测	可以	非常适合	非常适合	非常适合
便捷程度	一般	便捷	便捷	非常便捷

CCK 用途：药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定、肿瘤药敏试验

操作说明：

一、制作标准曲线（测定细胞具体数量时）

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。

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 小时使细胞贴壁，然后加 CCK 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（试用此标准曲线的前提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 后的培养时间。）

二、细胞活性检测

1、在 96 孔板中接种细胞悬液（100μL/孔）。将培养板放在培养箱中预培养（在 37℃,5% CO_2 的条件下）。

2、向每孔加入 10 μL 的 CCK 溶液（注意不要在孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。

3、将培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。

4、用酶标仪测定在 450nm 处的吸光度。

5、如果暂时不测定 OD 值，打算以后测定的话，可以向每孔中加入 10 μL 0.1M 的 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 小时内吸光度不会发生变化。

三、细胞增值-毒性检测

1、在 96 孔板中配置 100μL 的细胞悬液。将培养板在培养箱预培养 24 小时（在 37℃，5% CO_2 的条件下）。

2、向培养板加入 10μL 不同浓度的待测物质。

3、将培养板在培养箱孵育一段适当的时间（例如：6、12、24 或 48 小时）。

4、想每孔加入 10μL CCK 溶液（注意不要再孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。

5、将培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。

6、用酶标仪测定在 450nm 处的吸光度。

7、如果暂时不测定 OD 值，打算以后测定的话，可以向每孔中加入 10 μL 0.1M 的 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 小时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的话，可在加 CCK 之前更换新鲜培养基（除去培养基，并用培养基洗涤细胞两次，然后加入新的培养基），去掉药物影响。当然药物影响比较小的情况下，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。

备注：

①建议先做几个孔摸索接种细胞的数量和加入 CCK 试剂后的培养时间。

②有条件的情况下建议采用多通道移液器，可以减少平行孔减的差异。加入 CCK 试剂时，建

议斜贴着培养板壁加，不要插到培养基页面下加，容易产生气泡，会干扰 OD 值读数。

③白细胞可能需要培养较长时间。

④当使用标准 96 孔板时，贴壁细胞的最小接种量至少为 1,000 个/孔 (100 μL 培养基)。检测白细胞时的灵敏度相对较低，因此推荐接种量不低于 2,500 个/孔 (100 μL 培养基)。如果要使用 24 孔板或 6 孔板实验，请先计算每孔相应的接种量，并按照每孔培养基总体积的 10%加入 CCK 溶液。

⑤如果没有 450nm 的滤光片，可以使用吸光度在 430-490 nm 之间的滤光片，但是 450nm 滤光片的检测灵敏度最高。

⑥培养基中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。

活力计算：

细胞活力*（%）=[A(加药)-A（空白）]/[A（0 加药）-A（空白）] ×100

A（加药）：具有细胞、CCK 溶液和药物溶液的孔的吸光度

A（空白）：具有培养基和 CCK 溶液而没有细胞的孔的吸光度

A（0 加药）：具有细胞、CCK 溶液而没有药物溶液的孔的吸光度

*细胞活力：细胞增殖活力或细胞毒性活力

保存条件：

4℃干燥避光保存，有效期一年。