

CCK-8 常见问题解答

1: CCK 的保存和稳定性如何?

答: CCK 稳定性高, 避光条件-20℃有效期 2 年, 4℃有效期 1 年。经常使用建议 4℃保存, 避免反复冻融。CCK 正常颜色为粉红色, 若颜色发生明显偏差, 质量可能有发生变化。

2: CCK 的细胞毒性如何?

答: CCK 毒性非常低, 因此 CCK 检测完后相同的细胞还能用于其它细胞增殖检测如结晶紫染色法, 中性红染色法或 DNA 荧光染色法。

3: CCK 会对活细胞进行染色吗?

答: 不会, 首先 WST-8 不会进入细胞染色, 整个显色反应都是在培养体系中进行的。另外 WST 和 WST-8 甲臜都属于高度水溶性组分, 反应结束更换新的培养液, 即可清除外源组分。

4: 做细胞活性检测时, 每孔应该接种多少个细胞?

答: 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 μ L 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 μ L 培养基)。

5: 若是使用 6 孔或者 24 孔板进行试验, CCK 试剂使用量怎么样呢?

答: 如果要使用 6 孔板或 24 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。

6: 能否用 384 孔板进行细胞增殖与活性检测的实验呢?

答: 可以, CCK-8 产品的使用量为每孔培养基总体积的 10%。建议先将 CCK-8 产品稀释一倍, 然后加入培养基总体积的 20%即可, 这样可减少误差。

7: 培养基的本底颜色如酚红会不会影响细胞活性的检测呢?

答: 不会的, 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值而消去, 因此不会对检测造成影响。

8: 在加入 CCK-8 时可否不更换培养基?

答: 一般情况下可以不更换培养基。但是如果培养基里有氧化还原性物质的话, 有可能会产生误差, 必须更换其它培养基。

9: 只可以在 450 nm 波长处测 OD 值吗?

答: 可以在 450 nm 波长处测 OD 值, 但是若无此波长的滤光片, 可选择吸光度在 430-490 nm 之间的滤光片, 但是 450 nm 滤光片的检测灵敏度最高。

10: 若是暂不检测 OD 值, 该如何处理?

答: 若暂时不测定 OD 值, 可以向每孔中加入 10 μ L 0.1 M 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。24 小时内测定, 吸光度不会发生变化

11: 在实验中 OD 值太高, 怎么解决?

答：可以缩短加入 CCK-8 后的培养时间。例如：可以把加入 CCK-8 试剂后的培养时间由 2 小时缩短为 1 小时。此外，可适当减少细胞的数量。

12: 如果 OD 值太低，怎么解决？

答：可以采取 2 个办法：1、适当增加细胞数量 2、延长加入 CCK-8 试剂后的反应时间。

13: 应该每次做标准曲线吗？

答：建议每次做。虽然细胞是一样的，但是细胞的状态不一定一样。对于状态不一样的细胞，建议每次做标准曲线。

14: 在 cck-8 显色过程中，如何终止反应

答：有以下几种方法（96 孔板）：1. 在显色反应后，将培养板放置 4° 冰箱内；2. 每孔加入 10ul 0.1M HCL 溶液。3. 每孔加入 10ul 1% (w/v) 的 SDS 溶液。注：反应停止后，应在 24h 内测定

15: 如何减少由于 CCK-8 试剂在孔壁上的残留所带来的误差

答：可以在加样前用培养基稀释 CCK-8 试剂并混匀后加样

16. 好用的 CCK-8 试剂盒推荐？

答：百萤生物生产的 Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 细胞活力检测试剂已广泛用于生物活性因子的活性检测，抗肿瘤药物的筛选，细胞增殖的测定，细胞毒性检测以及药敏等与细胞活性和增殖相关的实验