

# Product

## Description

Product Number:

AUX00002-500 、 AUX00002-1000、 AUX00002-3000

Volume:

500T、 1000T、 3000T

# Cell Counting Kit-8



Azaood Company, founded in 2004, is an industry leader in the development and production of high-quality purified enzymes, proteins, nucleic acid and cell separation kits, as well as fetal bovine serum for life science research, diagnosis, and biotechnology applications; Azaood Company is a major manufacturer that has passed ISO9001 certification and can meet the requirements of research, large-scale biological processing, and OEM applications.

- Corporate name: Azaood Corporation
- Corporate Offices: 158 Oxmoor Blvd Birmingham, AL 24605 USA
- Tel: +1205.945.1786
- Email: [info@azaood.com](mailto:info@azaood.com)

## 产品信息

产品编号:AUX00002

储存温度: 2-8℃避光保存, 有效期一年

## 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<sub>2</sub> 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<sub>2</sub> 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、向每孔加入 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。

•Corporate name: Azaood Corporation  
•Corporate Offices: 158 Oxmoor Blvd Birmingham, AL 24605 USA  
•Tel: +1205.945.1786  
•Email: info@azaood.com

- 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  $\mu$ 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  $\mu$ L 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：**

$$\text{细胞活力}(\%) = [A(\text{加药}) - A(\text{空白})] / [A(0 \text{ 加药}) - A(\text{空白})] \times 100$$

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。