

CCK-8 细胞增殖检测试剂盒说明书

概述：

CCK-8 (Cell Count Kit-8) 是一种利用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) 快速检测细胞增殖或毒性试验的方法。WST-8是一种类似MTT的四唑盐，在电子载体的存在下，被活细胞内的脱氢酶还原生成水溶性的橙黄色Formazan (甲臞)，通过比色法检测甲臞生成量来反映试验中活细胞的数量。

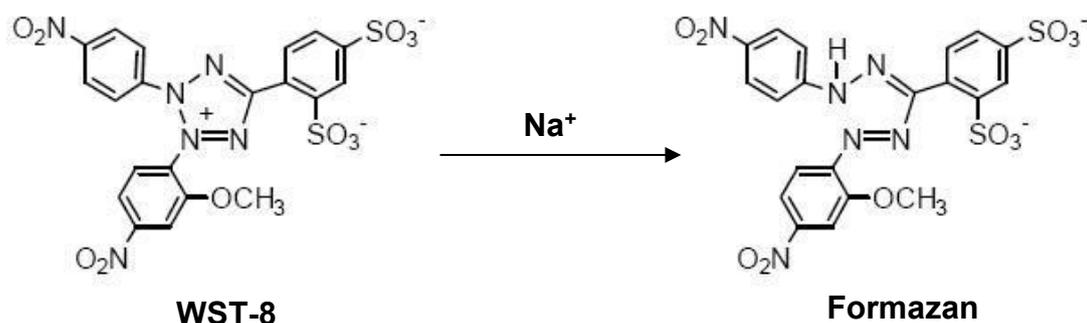


图1. CCK-8化学原理示意图

操作方法：

1. 标准曲线制作

- a. 接种细胞：接种不同细胞密度梯度的细胞至96孔板（建议设5~8个梯度），每孔100 μl ，每组设置3~5个复孔，置于37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 培养箱；
- b. CCK-8孵育：接种4 h后，待细胞完全贴壁，在每孔中加入10 μl 的CCK-8试剂，轻轻混匀，并将培养板置于37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 培养箱中孵育1~4 h；
- c. 上机检测：将孵育后的细胞培养板置于酶标仪上，在450 nm处检测其吸光值；
- d. 制作标曲：制作以细胞数量为横坐标，OD值为纵坐标的标准曲线，参照标准曲线可以计算出样品组的细胞数量；

2. 细胞毒性检测

- a. 接种细胞：接种对数期的细胞至96孔板，密度约 $1\sim 5\times 10^3$ 个/孔，每孔100 μl ，每组设置3~5个复孔，置于37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 培养箱；
- b. 样品处理：待细胞贴壁后，加入不同浓度的药物或样品处理细胞，然后置于培养箱中孵育一定的时间（如：24 h、48 h、72 h）；
- c. CCK-8孵育：每孔加入10 μl 的CCK-8试剂，轻轻混匀，并将培养板置于37 $^{\circ}\text{C}$ ，5% CO_2 培养箱中孵育1~4 h；（可进行预实验确定孵育时间）；
- d. 上机检测：将孵育后的细胞培养板置于酶标仪上，在450 nm处检测其吸光值；

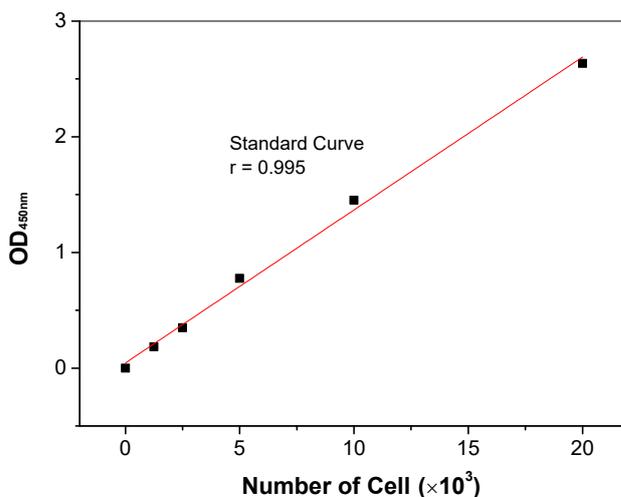


图2. 以Hela细胞为例，细胞按 $1.25 \times 10^3 \sim 20 \times 10^3$ 个/孔的密度梯度接种至96孔板中，培养4 h后，待细胞完全贴壁，每孔加入10 μ l的CCK-8试剂，轻轻混匀，置于培养箱中孵育1 h后，在450 nm处检测其吸光值，并制作标准曲线。

包装规格：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装规格 |
|----------|-----------------|------------------|
| SB-cck8s | CCK-8 细胞增殖检测试剂盒 | 1 ml(trial size) |
| SB-cck8m | | 5 ml |
| SB-CCK8L | | 6*5 ml |

注意事项：

1. 接种对数期生长的细胞，注意使细胞分散均匀，确保每个复孔中的细胞数量一致，减少误差。
2. 为了达到最佳的实验效果，建议先进行预实验，确定最佳的细胞接种密度及CCK-8试剂孵育时间；以贴壁细胞为例，接种密度约 $1 \sim 5 \times 10^3$ 个/孔；孵育时间为1~4 h，多数细胞孵育约30 min即可观察到明显的颜色变化。
3. 设置空白对照，在无细胞的培养基中加入CCK-8检测，去除本底对吸光值的干扰。
4. 如果OD值太高，建议降低细胞接种密度或减少CCK-8试剂孵育时间。

储存条件：

4℃保存，1年有效；-20℃保存，2年以内有效。

仅供科学研究使用