CCK-8 细胞增殖检测试剂盒说明书

概述：

CCK-8 （Cell Count Kit-8）[3]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[2]，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 （甲臜），通过比色法检测甲臜生成量来反映试验中活细胞的数量。

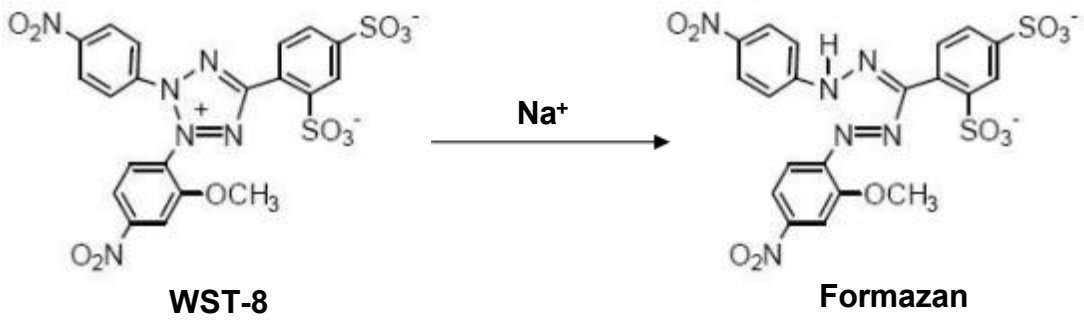

图1. CCK-8化学原理示意图

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℃，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℃，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1~5×10^3个/孔，每孔100 μl，每组设置3~5个复孔，置于 37℃，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℃，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；

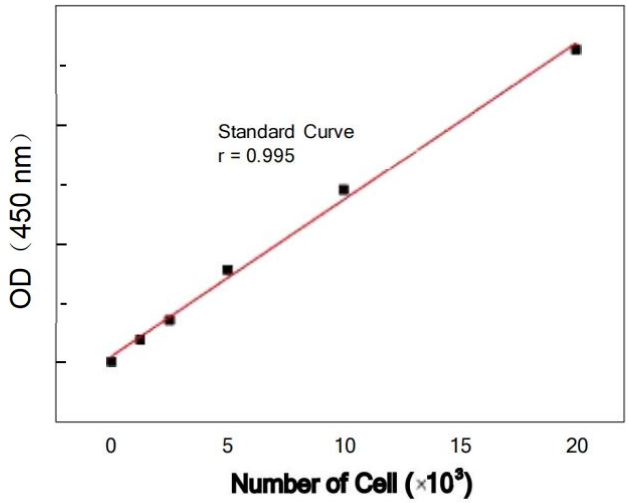

图2. 以Hela细胞为例，细胞按1.25×10³～20×10³个/孔的密度梯度接种至96孔板中， 培养4 h后，待细胞完全贴壁，每孔加入10 μl 的CCK-8试剂，轻轻混匀， 置于培养箱中孵育1 h后，在450 nm处检测其吸光值，并制作标准曲线。

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1~5×10³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