

## CCK-8 细胞增殖检测试剂说明书

### 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 (甲贲), 通过比色法检测甲贲生成量可以反映试验中活细胞的数量。



### 产品规格:

产品名称	产品货号	产品规格
Cell Count Kit-8	U22-001A	5ML
Cell Count Kit-8	U22-002A	5*5ML
Cell Count Kit-8	U22-003A	10*5ML
Cell Count Kit-8	U22-004A	25*5ML

### 操作方法:

#### 细胞毒性检测

1. 接种细胞: 接种对数期的细胞至96孔板, 接种数量 $1\sim 5\times 10^3$ 个/孔, 每孔100  $\mu$ l, 每组设置3~5个复孔, 置于37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>培养箱;
2. 样品处理: 待细胞贴壁后, 加入不同浓度的样品处理细胞, 然后置于培养箱中孵育一定的时间 (如: 24 h、48 h、72 h) ;
3. CCK-8孵育: 每孔加入10  $\mu$ l的CCK-8试剂, 轻轻混匀, 并将培养板置于37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>培养箱中孵育1~4 h; (可进行预实验确定孵育时间) ;

4. 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；

### 储存条件：

4℃保存，半年有效； -20℃保存， 两年有效；

### 仅供科学研究使用：

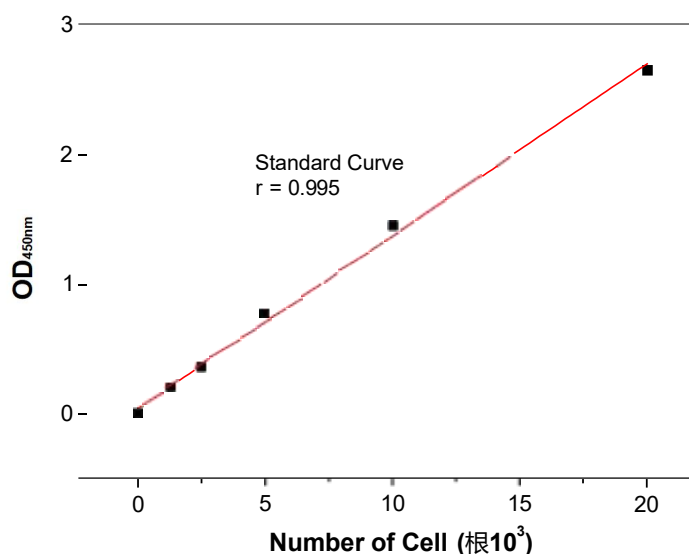


图2. 以Hela细胞为例，细胞按 $1.25 \times 10^3 \sim 20 \times 10^3$ 个/孔的密度梯度接种至96孔板中，培养4 h后，待细胞完全贴壁，每孔加入10  $\mu$ l的CCK-8试剂，轻轻混匀，置于培养箱中孵育1 h后，在450 nm处检测其吸光值，并制作标准曲线。

### 注意事项：

1. 使用前先将低温保存的试剂在室温条件下放置20-30 min。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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。