

CCK-8 细胞增殖检测试剂说明书

货号: **KC1132-005** **5ml(500T)**

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。

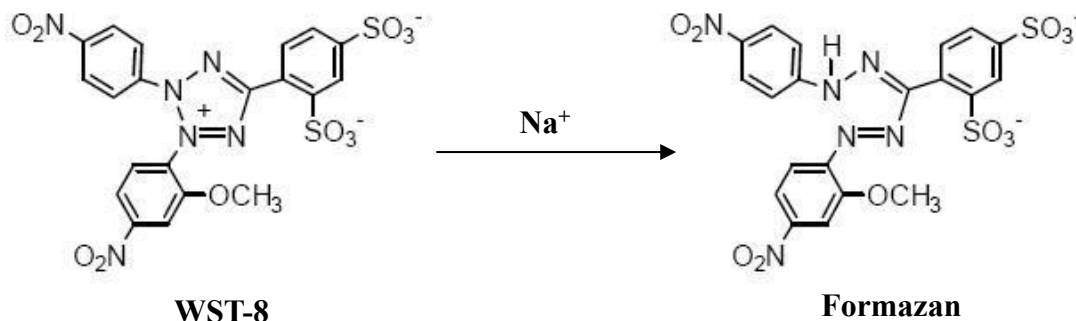


图.1. CCK-8化学原理示意图

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 μl , 每组设置3~5个复孔, 置于37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 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 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);
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

2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 半年有效; -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存, 两年有效;

仅供科学研究使用

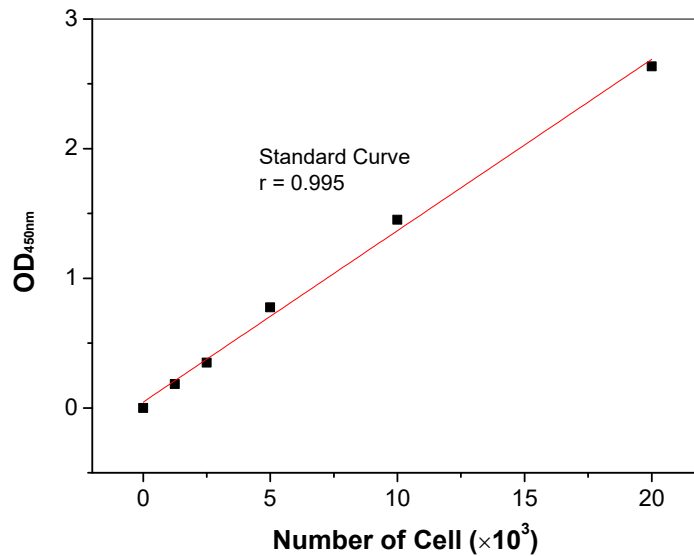


图.2. 以Hela细胞为例，细胞按 $1.25 \times 10^3 \sim 20 \times 10^3$ 个/孔的密度梯度接种至96孔板中，培养4 h后，待细胞完全贴壁，每孔加入10 μ l的CCK-8试剂，轻轻混匀，置于培养箱中孵育1 h后，在450 nm处检测其吸光值，并制作标准曲线。

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。