

# CCK-8 细胞增殖/毒性检测试剂盒

Cell Counting Kit-8(CCK-8)

## 使用说明书

版本号: 241010

货号及规格:

目录编号	包装规格
C201-01	1mL(100T)
C201-02	5mL(500T)
C201-03	25mL(2500T)
C201-04	100mL(10000T)

**储存条件:** 4℃运输和保存, 保质期一年; -20℃长期保存, 保质期两年, 尽量避免反复冻融。

**产品概述** CCK-8 试剂盒, 是一种基于 WST-8 的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏检测试剂盒。WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子耦合试剂 1-Methoxy PMS 存在的情况下, 可以被还原生成橙黄色水溶性的甲臞(Formazan)。细胞增殖越多越快, 则颜色越深; 细胞毒性越大, 则颜色越浅。对于同样的细胞, 颜色的深浅和细胞数目呈线性关系。

### 使用方法:

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液(100uL/孔), 通常细胞增殖实验每孔约 2000 个细胞, 细胞毒性实验每孔约 5000 个细胞, 具体每孔所用的细胞的数目, 需根据细胞的大小, 细胞增殖速度的快慢等因素决定。
2. 按照实验需要, 进行培养并给予 0-10uL 特定的药物刺激, 处理一段适当的时间(例如: 6, 12, 24 或 48 小时)。
3. 每孔加入 10uL CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200uL, 则需要加入 20uL CCK-8 溶液, 以此类推。可以用加相应量细胞培养基和 CCK-8 但不加细胞的孔作为空白对照, 若担心所使用的的药物会干扰检测, 需设置加相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但不加细胞的孔作为空白对照。
4. 在细胞培养箱内继续孵育 1-4 小时, 具体时间可以通过预实验确定。预实验时可以在 0.5、1、2 和 4 小时后分别用酶标仪检测, 然后选取吸光度范围比较适宜的一个时间点用于后续试验。

5. 用酶标仪测定在 450nm 处的吸光值，若无 450nm 滤光片，可以使用 420-480nm 的滤光片。如果样品为高浑浊度的细胞悬液，可以使用大于 600nm 的波长，例如 650nm，作为参考波长进行双波长测定。
6. 如果需要暂时不测 O.D 值，可以向每孔中加入 10uL 0.1M HCL 溶液，或者 1% w/v 的 SDS 溶液，避光保存在室温，24 小时内吸光度不会发生变化。

**注意事项：**

1. 使用 96 孔板进行检测时，如果细胞培养时间较长，请注意蒸发问题。可将 96 孔板外围一圈加培养基、水或 PBS 保湿。同事，可以把 96 孔板置于培养箱内靠近水盘的位置以缓解蒸发。
2. 培养时间根据细胞种类的不同和每孔内细胞数量的多少而不同。在正式实验前。建议先做预实验摸索铺板的细胞数量以及加入 CCK-8 试剂后的培养时间。
3. 铺板时请注意保证每个孔细胞数量均匀，建议铺板过程中注意时常混匀，防止因细胞沉淀造成不均匀。加入 CCK-8 后请前后左右轻轻摇动培养板数次，是培养基和 CCK-8 溶液充分混匀。
4. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应，如果待测物质有氧化性或还原性，可在加 CCK-8 之前更换新鲜培养基，去掉药物的影响。若药物影响比较小的情况可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入药物后的空白吸收即可。
5. 加入 CCK-8 时，如果细胞培养时间较长，培养基颜色或 pH 值已变化，建议换用新鲜的培养基。
6. 用酶标仪检测前需确保每个孔内没有气泡，否则会干扰测定。
7. 本试剂盒系无菌罐装生产，在使用过程中，请在生物安全柜内无菌操作，避免污染。
8. 为了您的健康和安，请穿戴实验服并佩戴一次性乳胶手套进行操作。
9. 本制品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等。

=====

