细胞增殖检测试剂盒（CCK-8）

产品编号	产品名称	规格
CG-HL-01	细胞增殖检测试剂盒（CCK-8）	500T/1000T

产品简介

细胞增殖检测试剂盒(Cell Counting Kit-8)简称 CCK-8，是一种基于 WST-8 而广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度检测的试剂盒。

WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物，在电子耦合试剂存在的情况下，可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成橙黄色的 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。

WST-8 是 MTT 的一种升级替代产品，和 MTT 或 MTT 类似产品如 XTT、MTS 等相比有明显的优点。首先，MTT 被线粒体内的一些脱氢酶 还原生成的甲臜不是水溶性的，需要有特定的溶解液来溶解；而 WST-8、 XTT 和 MTS 产生的甲臜都是水溶性的，可以省去后续的溶解步骤， WST-8 产生的甲臜比 XTT 和 MTS 产生的甲臜更易溶解，WST-8 比 XTT 和 MTS 更加稳定，使实验结果更加稳定，WST-8 与 MTT、XTT 相比线 性范围更宽，灵敏度更高。

本试剂盒可以用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测，也可以用于抗癌药物等对细胞有毒试剂诱导的细胞毒性检测，或一些药物诱导的细胞生长抑制检测。

试剂盒组成

组份编号	组份名称	规格	数量
CG-HL-01	Cell Counting Kit-8 (CCK-8)	5mL/瓶	1

储存条件

4℃避光保存，长期储存置于-20℃，两年有效。

注意事项

1. 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。
2. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
3. 若暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 10 μL0.1M 的 HCl 溶液 或者 1%w/vSDS 溶液，并将培养板在室温条件下避光保存。24h 内测定，吸光度不会发生变化。
4. 使用 96 孔进行细胞铺板，如果培养时间较长，一定要注意蒸发问题。 建议采取弃用周围一圈的办法，改加相同量的 PBS 水或者培养液。

5. 若细胞培养时间较长，培养基颜色发生变化或 pH 发生变化，建议更换新鲜的培养基后再加 CCK-8 试剂。含有酚红的培养基不影响本试剂盒做细胞活性的测定。
6. 如果样品为高浑浊度的细胞悬液，建议设定 600nm（或 600nm 以上）作为参比波长，扣除参比波长的 OD 值即可。
7. CCK-8 试剂对细胞的毒性非常低。它和活细胞内的脱氢酶持续反应使 溶液颜色不断加深，OD 值不断增加，一般推荐的孵育时间是 0.5~4h。
8. 本产品仅限专业人员用于科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
9. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 标准曲线设立

(1) 先用细胞计数板/细胞计数仪计数所制备的细胞悬液中的细胞数量，然后接种细胞。

(2) 按比例依次用培养基等比稀释成一个细胞浓度梯度，在 96 孔板中接种细胞悬液（100 μL/孔），建议可以设置 8 个细胞浓度梯度，每个浓度设置 6 个重复进行细胞铺板，例如按照细胞个数 0/312.5/625/1250/ 2500/5000/10000/20000 cells/96 孔板进行铺板。

(3) 接种后培养 2~4 h 使细胞贴壁，然后每 100 μL 培养基加 10 μL CCK-8 试剂培养一定时间后测定 OD 值，制作出一条以细胞数量为横坐标，OD 值为纵坐标的标准曲线。

2. 细胞活性检测

(1) 在 96 孔板中接种细胞悬液（100 μL/孔），将培养板放在培养箱中预培养 24h。

(2) 向每孔加入 10 μLCCK-8 溶液（注意不要在孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。

注：如产品有析出，可 37℃水浴处理，不影响使用。

(3) 将培养板在培养箱内孵育 0.5~4h。

注：初次实验可以在 0.5、1、2 和 4h 后分别用酶标仪检测，然后选取吸光度范围比较适宜的一 个时间点用于后续实验。

(4)用酶标仪测定在 450nm 和 600nm（消除孔板本底干扰）处的吸光度。

3. 细胞增殖-毒性检测

(1) 在 96 孔板中接种细胞悬液（100 μL/孔），将培养板放在培养箱中预培养 24h。

(2) 向培养板加入 1~10 μL 特定的药物刺激。

(3) 于培养箱中孵育一段时间（例如：6、12、24 或 48h）。

(4) 向每孔加入 10 μLCCK-8 溶液（注意不要在孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。

(5) 将培养板在培养箱内孵育 0.5~4h。

(6) 用酶标仪测定在 450nm 和 600nm（消除孔板本底干扰）处的吸光度。

注：如果待测物质有氧化性或还原性的话，可在加 CCK-8 之前更换新鲜培养基（除去培养基， 并用培养基洗涤细胞两次，然后加入新的培养基），去掉药物影响。当然药物影响比较小的情况下，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。

4. 计算公式

细胞存活率=[(As-Ab) / (Ac-Ab)]×100%

抑制率=[(Ac-As) / (Ac-Ab)]×100%

As：实验孔（含有细胞的培养基、CCK-8、待测药物）的吸光度。

Ac：对照孔（含有细胞的培养基、CCK-8、没有待测药物）的吸光度。

Ab：空白孔（不含细胞和待测药物的培养基、CCK-8）的吸光度