

CCK-8 试剂盒(细胞增殖及毒性检测试剂盒)使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5103	Cell Counting Kit-8	500T/1000T/10000T
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4℃ 避光保存，有效期 12 个月； -20℃ 避光保存，有效期 24 个月

【概述】

Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 采用高灵敏度的四唑盐 WST-8，在电子耦合试剂存在下，被细胞线粒体脱氢酶还原为水溶性的橙黄色甲脒 (Formazan)。

高灵敏度：灵敏度显著高于 MTT、XTT 或 MTS。

安全性：无放射性，对细胞无毒。

简便性：无需预配，无需有机溶剂溶解沉淀，直接在培养基中显色。

【使用方法】

- 1. 细胞接种：**在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μ L/孔)。将培养板置于培养箱中预培养 (如 24 小时)。建议密度：贴壁细胞 2000-10000 个/孔；悬浮细胞 5000-20000 个/孔。
- 2. 添加药物 (针对毒性实验)：**向孔内加入不同浓度的待测药物。置于培养箱中孵育特定的时间 (如 6-48 小时)。
- 3. 显色反应：**
 - ① 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液。注：若孔内原有培养基体积不是 100 μ L，请按 10% 的比例添加 CCK-8。避免在加入时产生气泡，气泡会严重干扰读数。
 - ② 将培养板置于培养箱内 (37℃) 孵育 0.5-4 小时。
- 4. 吸光度测定：**使用酶标仪测定 450nm 处的吸光度。若无 450nm 滤光片，可使用 430-490 之间的滤光片。

【对照设置与计算】

为了获得严谨的实验结果，建议设置以下对照：

组别	培养基	细胞	待测物质
实验孔 (As)	有	有	有
对照孔 (Ac)	有	有	无
空白孔 (Ab)	有	无	无

计算公式：细胞活力= [(As-Ab) / (Ac-Ab)]×100%

【注意事项】

- 1. 药物干扰检测：**若待测药物具有氧化还原性（如 Vc、DTT），会在无细胞情况下直接还原 CCK-8。对策：在加入 CCK-8 前，吸除含药培养基，用 PBS 洗涤两次，换入新鲜培养基。
- 2. OD 值过高 (> 2.5)：**说明细胞生长过密或孵育时间过长。对策：减少接种密度，或缩短 CCK-8 加入后的孵育时间（如减至 0.5 小时）。
- 3. OD 值过低 (< 0.5)：**说明细胞活性低或接种量太少。对策：增加接种密度，或延长 CCK-8 加入后的孵育时间（如增至 4 小时）。
- 4. 悬浮细胞注意事项：**悬浮细胞由于代谢较慢，建议增加接种量，且加入 CCK-8 后孵育时间通常需要延长。
- 5. 安全防护：**为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。