

细胞活力/毒性检测试剂盒（CCK-8）说明书

CCK-8（Cell Counting Kit-8）试剂检测细胞活力，可用于细胞增殖和毒性分析，方法简便而准确。其基本原理为：该试剂中的 WST-8 与 MTT 类似，在电子载体 1-甲氧基 PMS 的作用下，被细胞线粒体中的脱氢酶还原为具有高度水溶性的橙黄色甲臞染料（Formazan），甲臞的生成量与活细胞的数量和活力成正比，因此可利用这一特性直接进行细胞增殖和毒性分析。

操作步骤：

- 1、 使用 96 孔板，细胞培养和处理。
- 2、 每 100 μ l 细胞培养液加入 CCK-8 试剂 10 μ l。
- 3、 培养板放回培养箱，37 $^{\circ}$ C 孵育 1~4 小时。
- 4、 于 450nm 处测定 OD 值。
- 5、 结果分析将各测试孔的 OD 值减去对照孔或调零孔 OD 值。各平行孔的 OD 值取平均数。
$$\text{细胞活力}\% = (\text{加药细胞 OD} - \text{空白 OD}) / (\text{对照细胞 OD} - \text{空白 OD}) \times 100\%$$
- 6、 若使用 96 孔外的培养板，试剂用量依据培养基体积等比例增减。

注意事项：

- 1、 首次使用时，建议先做几个孔摸索条件，考察接种细胞的数量和加入 CCK-8 试剂后的培养时间。
- 2、 可采用多通道移液器，加样减少平行孔间差异。
- 3、 试剂加入后轻轻振摇培养板，使 CCK-8 试剂与培养基充分混匀。
- 4、 试剂加入后培养时间根据细胞种类的不同和每孔细胞数量的多少而异。对于贴壁细胞，加入 CCK-8 的培养时间一般为 1~4 小时，但在培养 30 分钟左右即可取出肉眼观察显色程度（根据细胞种类而定）。与贴壁细胞相比，悬浮细胞较难显色。对于悬浮细胞，在加入 CCK-8 培养 1~4 小时后，可先从培养箱中取出，目测染色程度或用酶标仪测定决定。白细胞较难显色，因此需要较长的 CCK-8 反应时间或增加细胞数量（ 10^5 个细胞/孔）。若显色困难，可以将培养板放回培养箱，继续培养数小时后再确定；注意：CCK-8 的最佳反应时间以具体显色的最佳时间为准。
- 5、 CCK-8 试剂中的 WST-8 会与还原剂反应生成甲臞，如果实验中有还原剂，需要检查背景的 OD 值，即在不加细胞的培养基中加入药物，然后加入 CCK-8 试剂在一定时间内检测，和不加药物的培养基进行比较（只加 CCK-8 试剂），如果 OD 值明显偏高，则说明有反应。
- 6、 若细胞培养时间较长导致培养基颜色或 pH 发生变化，建议更换新鲜培养基后再加入 CCK-8 试剂。含有酚红的培养基不影响本试剂使用。
- 7、 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。
- 8、 如果要测定细胞的具体数量，需要先做一个标准曲线。
- 9、 若测得 OD 值过高，可酌减铺板细胞数或 CCK-8 试剂用量。

试剂的优点：

- 1、 **结果准确，重现性好** 试剂不影响细胞活力，显色产物直接溶解于培养液，直接测定 OD 值即可，可准确反应细胞活力。
- 2、 **操作省时简单** 试剂即开即用，无需配制；只需一步操作，即可测定。
- 3、 **安全性好** 不含放射性同位素和有害有机溶剂，使用安全。
- 4、 **灵敏度高** 灵敏度高于 MTT、XTT 等方法。

贮藏条件：

在避光 0~5 $^{\circ}$ C 的条件下存放一年，测定效果完全不变。在 -20 $^{\circ}$ C 的条件下可以贮存更久。反复冻融会增加背景值，经常使用时请于 0~5 $^{\circ}$ C 条件下保存。

本产品仅供科研使用，不做其它用途。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779
Q Q：807961520 731791866
邮箱：shsunbao@126.com
<http://www.saint-bio.com>