



Cell Counting Kit-8

CCK-8 试剂盒

版本号: V241201

货号: C118

保存: -20°C

运输: 低温

货号	规格
C118-01	500 T
C118-10	500 T×10

【产品概述】

CCK-8 试剂盒, 是一种基于 WST-8 (化学名: 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) 而广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度的比色检测试剂盒。检测原理为: WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 其在电子耦合剂存在的情况下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成水溶性的橙黄色甲贖 (formazan), 生成的甲贖的颜色深浅与细胞增殖成正比, 与细胞毒性成反比。使用酶标仪在 450 nm 波长处测定 OD 值, 间接反映活细胞数量。本试剂盒可用于细胞增殖测定, 细胞毒性的检测, 药物筛选, 以及细胞生长抑制检测等。

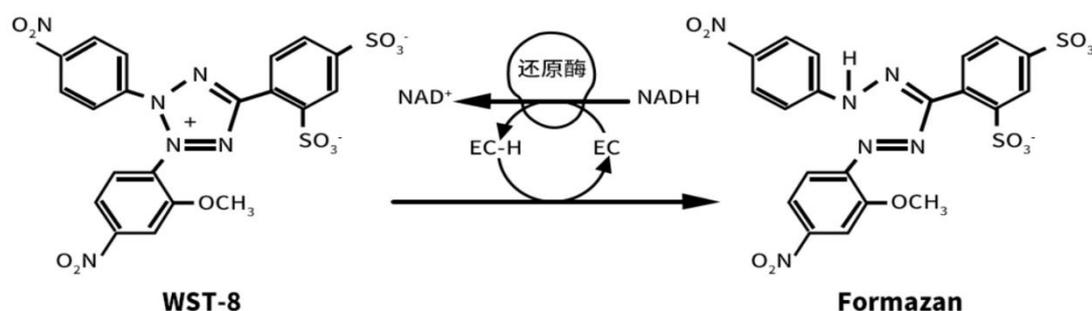


图 1. WST-8 分子结构及检测原理

【产品组分】

组分货号	组分名称	C118-01	C118-10
ZC118-101	Cell Counting Kit-8	500 T	500 T×10

【保存条件】

-20°C 保存, 保质期 24 个月, 建议分装保存, 避免反复冻融。经常使用可置于 4°C 短期保存 3 个月。

【操作步骤】

- 以 96 孔板为例, 96 孔板中每孔接种 100 μ l 的细胞悬液, 在细胞培养箱预培养 24 h。
- 向每孔加入 10 μ l 不同浓度的待测物质。如果仅测定细胞活性, 则不需要 2-3 步骤, 直接从第 4 步操作。
- 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间 (依据待测药物而定)。
- 向每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液 (注意不要产生气泡, 轻轻混匀)。
- 将培养板在培养箱内孵育 0.5-2 h。
注: 对于大多数情况孵育 1 h 就可以了。时间的长短根据细胞的类型和细胞的密度等实验情况而定, 初次实验时可以在 0.5 h、1 h、2 h 和 4 h 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。
- 酶标仪测定 450 nm 处的吸光值。
注: 若如无 450 nm 滤光片, 可以使用 420-480 nm 的滤光片。



【补充说明】

1. 建议调试合适的接种细胞的数量和加入 CCK-8 溶液后培养的时间。当使用标准 96 孔板时，贴壁细胞至少 1000 个/孔（100 μ l 培养基），白细胞至少 2500 个/孔（100 μ l 培养基）。建议实验前设定几个不同细胞数量的梯度孔进行条件测试，细胞培养时间和处理方法根据实验情况而定，加入 CCK-8 溶液后（加入体积为每孔细胞培养液体积的 10%），在 37°C 细胞培养箱中孵育，不同时间点后测 450 nm 处的吸光值（CCK-8 敏感性高，一些细胞 0.5 h 后就可以测定第一次）。
2. CCK-8 试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，如果待检测体系中有较多还原剂（或抗氧化剂）会造成背景 OD 值升高，干扰检测结果。如果实验中有还原剂，请检查背景 OD 值，设法先去除还原剂干扰。例如，可在加入 CCK-8 溶液之前更换新鲜的培养基，以去除待测药物的影响。当待测药物影响比较小时，可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入待测药物后的空白吸收即可。
3. 进行药物抑制实验时，如果药物中含有金属离子，如 Pb^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等金属离子会对 CCK-8 的显色反应产生影响，从而导致检测的灵敏度降低。
4. 如果细胞培养时间较长，培养基颜色发生变化，应洗涤细胞更换培养基后再加 CCK-8 检测。细胞培养基酚红不影响测定结果。
5. 为使 CCK-8 试剂盒培养基充分混匀，减少 CCK-8 在移液器上的残留，建议加样前用培养基稀释 CCK-8，混匀后加样。
6. 若暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 0.1 M 的 HCl 溶液或者 1% w/v SDS 溶液，室温避光保存，24 h 内检测，吸光度不会受到影响（加入 1% SDS 溶液的体积与加入 CCK-8 溶液的体积相同）。
7. 如果吸光值很低，可以适当增加细胞数量或者延长加入 CCK-8 溶液后的孵育时间。
8. CCK-8 方法优势：

检测方法	MTT	XTT	WST-1	CCK-8
产品性状	粉末	2 瓶溶液	溶液	1 瓶溶液
使用方法	配成溶液后使用	现配现用	即开即用	即开即用
检测灵敏度	高	很高	很高	高
检测时间	较长	较短	较短	最短
检测波长	560-600 nm	420-480 nm	420-480 nm	430-490 nm
细胞毒性	高，细胞形态完全消失	很低，细胞形态不变	很低，细胞形态不变	很低，细胞形态不变
试剂稳定性	一般	较差	一般	很好
批量样品检测	可以	非常适合	非常适合	非常适合
便捷程度	一般	便捷	便捷	非常便捷

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任仅限于此产品的价值本身。