



CELL COUNTING KIT-8 (CCK-8)

Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay
Cell Biology

产品编号 CTK009

产品简介 CCK-8 试剂主要成分为 WST-8，一种高度水溶的四氮唑化合物。是 MTT 的一种升级替代产品，比 XTT 和 MTS 更加稳定，线性范围更宽，检测灵敏度更高，因此实验结果更加稳定。本试剂可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的细胞毒检测，或药物诱导的细胞生长抑制检测。酚红和血清对本试剂盒的检测无明显影响。CCK-8 溶液可直接加入到培养细胞中，不需要与其他组分预混。WST-8 对细胞无明显毒性，加入 CCK-8 溶液显色后，可以在不同时间点用酶标仪读数，检测时间更加灵活，便于找到最佳测定时间。

包装规格 100/500 tests (1mL/5mL)

储存条件 4°C 避光保存期为一年 (-20°C 可用于长期保存，避免反复冻溶)

产品特点

- 操作简便
- 非放射性比色法测试，安全性高
- 细胞毒性低
- 敏感性优于其他同类检测方法（如 MTT、MTS、XTT 和 WST-1）

操作流程（以 96 空细胞培养板为例）

1. 细胞数目要求（参考数目）：细胞增殖实验，每孔 100 微升含 2000 个细胞；细胞毒性实验每孔加入 100 微升含 5000 个细胞。具体所用的细胞数目，需根据细胞的大小、细胞增殖速度等因素进行调整。
2. 细胞铺板后放入培养箱培养 24 小时后，每空加入 10 微升不同浓度的待测物质。
3. 继续培养适当的时间（所需时间取决于实验要求，例如 6、12、24 或 48 小时；对于细胞增殖实验，通常不低于两个细胞增殖周期，每个细胞周期大约为 24 小时）。
4. 实验终点，每孔加入 10 微升 CCK-8 溶液。
5. 将培养板在培养箱内孵育 1-4 小时。
6. 测定 450nm 吸光度值。如无 450nm 滤光片，可以使用 420/480nm 的滤光片。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。

FOR RESEARCH USE ONLY, NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC PROCEDURES



注意事项

1. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，因此还原剂（例如一些抗氧化剂）会干扰检测结果。如果待测物质有氧化性或还原性特点，可在加入 CCK-8 溶液之前更换新鲜培养液（除去旧的培养液，并用培养液洗涤细胞两次，然后加入新的培养液），消除药物影响。药物影响比较小的情况下，可以不更换培养液，直接扣除加入药物后培养液的吸光值（空白对照）即可。
2. 培养液中酚红和血清对反应产物的吸光度无显著影响，在计算时通过扣除空白吸光值即可消除。
3. 使用多通道移液器加样，以减少平行孔间的差异。加入 CCK-8 溶液时，建议斜贴着培养板壁加入，不要将移液器吸头插到培养液液面下，减少气泡产生（气泡影响读值）。轻轻摇动培养板，充分混匀 CCK-8 和培养液。用酶标仪检测前需确保培养孔内没有气泡，否则会干扰读值。
4. 若暂时不测定，可以向每孔中加入 10 微升 0.1N 的盐酸或者 1% SDS (w/v)，室温避光保存。24 小时内测定，吸光值不会发生显著变化。
5. 在操作一个新的细胞系之前，建议先做几个孔探索接种细胞的数量和加入 CCK-8 溶液后的培养时间。淋巴细胞等可能需要培养较长时间。若使用 24 孔板或 6 孔板进行实验，请先计算每孔相应的细胞接种量，并按照每孔培养液总体积的 10% 加入 CCK-8 溶液。
6. 450nm 滤光片的检测灵敏度最高。若没有 450nm 的滤光片，可使用吸光度在 430-490nm 之间的滤光片。
7. 铅、铁、铜等金属离子对 CCK-8 催化反应有影响，注意使用的培养液或代检物质是否含有这些特定的金属成分。例如，终浓度为 1mM 的氯化亚铅、氯化铁、硫酸铜对显色反应分别有 5%、15%、90% 抑制率。
8. 本产品仅限于专业人员的科学研究使用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品生产添加。
9. 为保障操作人员的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

FOR RESEARCH USE ONLY, NOT FOR USE IN DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC PROCEDURES

MACGENE Biotechnology ● Phone: (010)8205-7786 ● (010)6237-9789

E-mail: order@macgenes.com ● Tech Support: support@macgenes.com ● URL: <http://www.macgene.com>