



Cell Counting Kit-8

产品货号：CCK-800

产品介绍：

CCK-8 试剂中含有 WST-8 (化学名：2-(2-甲氧基-4-硝基苯基)-3-(4-硝基苯基)-5-(2,4-二磺酸苯)-2H-四唑单钠盐) ，它在电子载体 1-甲氧基-5-甲基吩嗪硫酸二甲酯 (1-Methoxy 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黄色甲臞 (Formazan) ，生成的甲臞的量与活细胞的数量成正比。用酶联免疫检测仪在 450nm 波长处测定其光吸收值，可间接反映活细胞数量。该方法已被广泛用于一些生物活性因子的活性检测、大规模的抗肿瘤药物筛选、细胞增殖试验、细胞毒性试验以及药敏试验等。

产品规格

货号	产品名称	规格	储存条件
CCK-800-01	Cell Counting Kit-8	5ml(500 次)	4℃避光，一年有效
CCK-800-02	Cell Counting Kit-8	10ml(1000 次)	4℃避光，一年有效
CCK-800-03	Cell Counting Kit-8	5*10ml	4℃避光，一年有效
CCK-800-04	Cell Counting Kit-8	10*10ml	4℃避光，一年有效

使用方法：

I. 制作标准曲线

- 1、接种细胞。设置 3-5 个细胞浓度梯度，接种到 96 孔细胞培养板中，每个浓度设置 3-6 个重复。将 96 孔细胞培养板至于细胞培养箱中培养。
- 2、培养 2-4h 后，加入 CCK-8 溶液，将 96 孔细胞培养板在培养箱中孵育一定时间。
- 3、取出细胞培养板，用酶标仪测定 450nm 处吸光度。
- 4、绘制标准曲线，X 轴代表细胞数，Y 轴代表吸光度。

II. 细胞活性检测

- 1、在 96 孔细胞培养板中接种细胞，100ul/孔。将培养板置于细胞培养箱中培养。
- 2、每孔加 10ul CCK-8 溶液，在培养箱中继续孵育 1-4h。
- 3、利用酶标仪测定 450nm 处吸光度。
- 4、如果暂时不测定 OD 值，打算以后测定的话，可以向每孔中加入 10 μl 0.1 M HCl 溶液或者 1%(W/V)SDS 溶液，并遮盖培养板避光保存在室温条件下。在 24 小时内吸光度不会发生变化。

III. 细胞增殖和细胞毒性检测

- 1、在 96 孔细胞培养板中接种细胞，100ul/孔。将培养板置于细胞培养箱中培养 24h。
- 2、加入不同浓度的待检测物质 (药物或其他物质) ，继续培养一定时间 (例如：6h、12h、24h 等) 。
- 3、每孔加 10ul CCK-8 溶液，在培养箱中继续孵育 1-4h。
- 4、利用酶标仪测定 450nm 处吸光度。
- 5、如果暂时不测定 OD 值，打算以后测定的话，可以向每孔中加入 10 μl 0.1 M HCl 溶液或者



1%(W/V)SDS 溶液,并遮盖培养板避光保存在室温条件下。在 24 小时内吸光度不会发生变化。

注意事项:

1、接种时注意细胞悬液一定要混匀,以避免细胞沉淀下来,导致每孔中的细胞数量不等。培养板周围一圈孔培养基容易挥发,为了减少误差,建议培养板的四边每孔只加培养基或无菌 PBS,而不作为指标检测孔。

2、CCK-8 的最佳反应时间以具体显色的最佳时间为准。第一次做实验时,建议先做数孔摸索接种细胞的最佳数量和加入 CCK-8 试剂后的最佳孵育时间。

一般情况下,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)。对于悬浮细胞,若显色困难,可适当延长孵育时间后再测定。对于贴壁细胞,CCK-8 的孵育时间一般为 1- 4 小时,多数细胞在培养 30 分钟左右即可肉眼观察到明显的显色反应,培养 3.5-4 小时左右检测效果最佳。

3、实验过程中注意设置空白对照孔。可以用加了相应量细胞培养液和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。或者使用加了相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。(操作时避免产生气泡)

4、本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应,如果待检测体系中存在较多的还原剂,例如一些抗氧化剂会干扰检测,正式检测时则需要除去培养基,并用培养基洗涤细胞两次,然后加入新的培养基和 10 μ l CCK-8 进行检测。。含有酚红的培养基不影响本试剂盒做细胞活性的测定。

5、如果样品为高浑浊度的细胞悬液,建议设定 600 nm (或 600 nm 以上) 作为参比波长,扣除参比波长的 O.D 值即可。

6、操作时请穿实验服并戴一次性手套。