CCK-8 检测试剂盒
(Cell Counting Kit-8)

金普来
Gene-Protein Link

产品货号	产品名称	产品规格	贮存条件
P04D30S	CCK-8检测试剂盒	100T/1mL	2～8℃，避光
P04D30M	CCK-8检测试剂盒	500T/5mL	2～8℃，避光
P04D30L	CCK-8检测试剂盒	3000T/30mL	2～8℃，避光

【产品介绍】

本产品 CCK-8 检测试剂盒（Cell Counting Kit-8）是一种以 WST-8 为原理的即用型试剂盒，广泛应用于细胞增殖检测，细胞毒性检测，药物筛选，药敏实验等。WST-8 是 MTT 的升级替代品，与 MTT 相比具有明显的优点，即宽线性范围，高灵敏度，高稳定性，安全无毒的特点。

本产品原理为 WST-8 在电子载体(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瓒(Formazan)染料，生成的甲瓒数量与活细胞的数量成正比。颜色越深，细胞增殖越多，颜色越浅，细胞毒性越大，因此可以用这一特性直接进行细胞增殖和毒性分析。

【使用方法】

1. 细胞增殖检测：

a. 在 96 孔培养板中接种细胞悬液(100μL/孔，大概 2000 个细胞/孔)；
b. 需设置实验孔（As），对照孔(Ac)，空白孔(Ab)，各重复至少 2 孔；
c. 将培养板放在 37℃培养箱中培养 2～4 小时（如果不需要贴壁，此步骤可以省略）；
d. 向每孔加入 10μL 的 CCK-8(注意不要产生气泡)，轻轻混匀；
e. 将培养板放在 37℃培养箱中孵育 1～4 小时(可肉眼观察，颜色深者为佳)；
f. 用酶标仪在 450nm 处测定吸光度。

2. 细胞毒性检测：

a. 在 96 孔培养板中接种细胞悬液(100μL/孔，大概 5000 个细胞/孔)；
b. 需设置实验孔（As），对照孔(Ac)，空白孔(Ab)，各重复至少 2 孔；
c. 将培养板放在 37℃培养箱中培养 2～4 小时（如果不需要贴壁，此步骤可以省略）；
d. 向培养板加入不同浓度的待测药物；
e. 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间（6h，12h，24h，48h 等）；
f. 向每孔加入 10μL 的 CCK-8 (注意不要产生气泡)，轻轻混匀；
g. 将培养板置于培养箱内孵育 1～4 小时(可肉眼观察，颜色深者为佳) ；

注：血液细胞需要更长时间。

h. 用酶标仪在 450nm 处测定吸光度。

3. 标准曲线的绘制（要测定细胞的具体数量，建议同时做标准曲线）：

a. 制备细胞悬液，细胞计数板计数；
b. 接种细胞至 96 孔板内，按比例（如对比稀释）依次用培养基等比稀释成多种细胞浓度梯度，一般要做 5 个细胞浓度梯度，每组 3～5 个复孔；
c. 37℃培养箱中培养 2～4 小时（如果不需要贴壁，此步骤可以省略）；
d. 按照每 100μL 培养基加入 10μL CCK-8 (注意不要产生气泡)，培养一定时间后测定 OD 值。

【使用方法】

e. 以细胞数量为横坐标（X 轴），OD 值为纵坐标（Y 轴）制备标准曲线。

f. 根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量。

注 1：每孔所用细胞数量，需根据细胞大小及增殖快慢决定。

注 2：使用 96 孔培养板进行培养时，如培养孔内有蒸发现象，则需补充 PBS 或培养液。

注 3：加入 CCK-8 溶液的比例为培养板内体积 10%（如 200μL 细胞培养液加 20μL 的 CCK-8）。

注 4：如果待测药物有氧化性或还原性，可在加入 CCK-8 之前更换新鲜培养基，去掉待测药物的影响。当待测药物影响比较小的情况下可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入待测药物后的空白吸收即可。

注 5：反应停止后，应在 24 小时内测定。

4. 终止反应（以下方法任选其一）

a. 在显色反应后，将培养板放置 4℃冰箱内。

b. 每孔加入 10μL 0.1M HCl 溶液。

c. 每孔加入 10μL 1% (w/v)的 SDS 溶液。

5. 计算公式：

细胞存活率（%）=[(As-Ab)/(Ac-Ab)]×100%

抑制率 = [(Ac-As)/(Ac-Ab)]×100%

As：实验孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 和药物）

Ac：对照孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8，不含药物）

Ab：空白孔吸光度（含培养基、CCK-8，不含细胞、药物）

【注意事项】

- 避光保存，在 2～8℃条件下可保存一年，在 -20℃条件下可保存两年，切勿反复冻融。
- 本产品的检测依赖于脱氢酶催化的反应，所以还原剂（例如一些抗氧化剂）会干扰检测，如果待检测体系中存在较多的还原剂，需设法去除。
- 加入药物中如含有金属，会对 CCK-8 显色有影响。终浓度为 1mM 的氯化亚铅、氯化铁、硫酸铜会抑制 5% 、15% 、90%的显色反应，使灵敏度降低。终浓度是 10 mM 将会 100% 抑制。
- 培养基中的酚红和血清不会影响实验结果，其吸光度可以通过扣除空白孔中本底吸光度而去除，因此不会对检测造成影响。
- 本产品不能检测细菌。
- 本产品对细胞的毒性非常低。它和活细胞内的脱氢酶持续反应使溶液颜色不断加深，OD 值不断增加（注：活细胞内的脱氢酶是持续产生的）。
- 操作时应穿实验服并戴一次性手套。
- 仅用于科学研究用途。

【相关产品】

货号	产品名称	规格
P04D16	细胞周期与细胞凋亡试剂盒	50T/100T/200T
P04D01	Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒	20T/50T/100T
P04D07	Annexin V-Alexa Fluor 488/PI 凋亡试剂	20T/50T/100T
P04D13	Annexin V-PE/7-AAD 凋亡试剂盒	20T/50T/100T

Version：20190106（第一版）