

产品说明书

产品名称: **XKL Cell Counting Kit-8 (CCK-8)**

产品货号: **XKL0913**

产品规格: **1000T**

产品组成

组分	规格 (1000T)
即用型 CCK-8 溶液	10 mL

自备耗材: 酶标仪 (能测 450 nm 处的吸光值) 及二氧化碳培养箱 (37°C, 5%CO₂)、96 孔细胞培养板、可调节式移液枪及枪头

储存条件

4°C避光保存 12 个月, -20°C可长期保存, 避免反复冻融。如果经常使用, 请置于 4°C

产品简介

XKL Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 是基于高度水溶性的四唑盐 WST-8 来进行测定的。WST-8 在电子介体的作用下可被细胞中的脱氢酶还原生成水溶性甲瓚产物, 产生颜色反应, 其甲瓚产物为橙色, 可溶于组织培养基中。CCK-8 是非放射性的, 可在细胞增殖和细胞毒性实验中, 对活细胞进行灵敏的比色测定, 从而计算出细胞数量。细胞中脱氢酶产生的甲瓚产物的量与活细胞的数量成正比, 可用于检测细胞增殖和细胞毒性。CCK-8 试剂检测灵敏度高于其他四唑盐 (例如 MTT, XTT, MTS 或 WST-1)。

适用范围

细胞增殖检测。

注意事项

1. CCK-8 对细胞的毒性相当低, 因此细胞在 CCK-8 法检测后还可用于其他后续分析。
2. 如果 OD 值太低, 可以采取适当增加细胞数量或者延长加入 CCK-8 后的孵育时间的办法。
3. 试剂盒依赖于脱氢酶催化的反应, 影响活细胞中脱氢酶活性的条件或化学物质如还原剂会干扰检测。如果由于长期培养而改变了培养基的颜色或 pH, 请在添加 CCK-8 时更换培养基。

使用方法

注意: 正式实验前, 做预实验确定合适的细胞数量和孵育时间。若 OD 值太高, 可适当减少细胞数量、缩短加入 CCK-8 的孵育时间或减少 CCK-8 的上样量。

一、制作标准曲线

1. 先用细胞计数板计数所制备的细胞悬液中的细胞数量, 然后接种细胞;
2. 按比例依次用培养基等比稀释细胞, 一般要做 5-7 个细胞浓度梯度, 每组 4-6 个复孔;
3. 接种后培养贴壁细胞或悬浮细胞 0.5-4h, 每 100μL 培养基加 10μL CCK-8 试剂, 培养一定时间后测定 OD450 值,





制作出一条以细胞数量为横坐标，OD450 值为纵坐标的标准曲线。根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量。使用此标准曲线的前提条件是试验条件完全一致。

二、细胞活性检测

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液（100 μ L/孔），将板在培养箱中预先培养；
2. 在每孔中加入 10 μ L CCK-8 溶液，注意不要将气泡引入孔中，因为它们会干扰 OD 值读取；
3. 在培养箱中将平板孵育 0.5-4h；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；
4. 使用酶标仪测量 450nm 处的吸光度。

三、细胞增殖/毒性检测方案

1. 在 96 孔板中接种 100 μ L 细胞悬液（5,000 个细胞/孔），将板在培养箱中预培养 24h；
2. 在平板中加入 1-10 μ L 各种浓度的待测物质；
3. 在培养箱中将平板孵育适当的时间（例如 6、12、24 或 48h）；
4. 向板的每个孔中加入 10 μ L CCK-8 溶液，注意不要将气泡引入孔中，因为它们会干扰 OD 值读取；
5. 在培养箱中将平板孵育 0.5-4h；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；
6. 使用酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。

结果计算

细胞存活率= $[(As-Ab)/(Ac-Ab)]\times 100\%$

抑制率= $[(Ac-As)/(Ac-Ab)]\times 100\%$

As: 实验孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液）；

Ac: 对照孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 溶液，不含药物）；

Ab: 空白孔吸光度（含培养基、CCK-8 溶液，不含细胞、药物）。

FAQ:

1. 该产品比较敏感，偶有 OD 值偏高的现象，应该如何处理？

从三个方面进行调整：（1）用不同数目的细胞进行检测，制作标准曲线，确定合适的细胞数目；（2）缩短加入 CCK-8 的孵育时间；（3）减少 CCK-8 的上样量，使 CCK-8 稀释到合适浓度使用。

2. 如何判断本品的检测范围？

建议用自己的不同的细胞个数先做标准曲线，根据稳定线性趋势，确定特定细胞的检测数量区间。

3. 细胞毒性实验如何设置？

有两种设置方式：（1）100 μ L 细胞悬液中加入 1-10 μ L 各种浓度的待测物质，孵育适当时间后，再加入体系中 10% 的溶液；（2）先将待检测物质作用细胞一段时间后，再利用 CCK-8 检测细胞增殖情况。

4. OD 值在什么范围比较合适？

答：一般情况下 OD 值在 0.1-2.0 都可以，在 1.0 附近比较好。一般可将对照孔吸光度（含细胞、培养基、CCK-8 溶液，不含药物）的 OD 值控制在 0.8-1.0 左右，确定细胞的检测数量。

免责声明：该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

