

Cell Counting Kit-8 Reagent

Cat# CP0001

产品概述

Cell Counting Kit-8 Reagent (简称 CCK-8) 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) 的 MTT 类似物。在电子耦合试剂存在下, 可以被线粒体内的脱氢酶还原成橙黄色的水溶性甲臃 (formazan)。因为 CCK-8 相比于 MTT、XTT、MTS 有更好的甲臃水溶性、更低的毒性、更高的灵敏度、更优的试剂稳定性, 目前被广泛应用于细胞毒性和增殖、抗肿瘤药物筛选、药物敏感性测试等。

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
Cell Counting Kit-8 Reagent	CP0001-1ML	1 mL
Cell Counting Kit-8 Reagent	CP0001-5ML	5 mL
Cell Counting Kit-8 Reagent	CP0001-20×5ML	20*5 mL

储存方式

-25~-15℃保存, 注意避光。

使用说明

操作前注意事项

- 使用时, 需要提前将 CCK-8 进行复温, 建议按照先 2~8℃再室温条件进行逐级解冻;
- 为保证产品质量和使用寿命, 操作时尽量避光;
- 切勿将该试剂与其他品牌试剂混用;
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并佩戴一次性手套;
- 本产品仅用于科研。

所需物料

- 加样槽、96 孔板、多通道移液器、吸头
- 带有 450 nm 滤光片的酶标仪、CO₂ 培养箱

操作时间

- 细胞准备: 根据不同细胞的传代时间将细胞培养至合适的细胞代次, 一般提前 18-24 h 对细胞进行处理使细胞密度达到第 2 天实验时的要求;
- 样品准备: 如需加入样品对细胞进行处理, 提前对样品进行稀释;
- 孵育: 一般加入 CCK-8 试剂后, 在 CO₂ 培养箱孵育 1~4h 即可读取结果。

试剂用量

Cat#CP0001-1ML: ~100 孔; Cat#CP0001-5ML: ~500 孔; Cat#CP0001-20×5ML: ~10,000 孔。

操作步骤

根据下面步骤进行实验（注意：所有试剂或溶液在使用前都需要进行充分混匀）。

细胞增殖和毒性实验：

CCK8 检测细胞增殖的目的是评估细胞的生长和增殖能力。通过检测细胞增殖的程度，可以了解细胞的增殖速度、生长周期等信息，也可以用于药物筛选和肿瘤发生研究。

CCK8 检测细胞毒性的目的是评估不同药物浓度对于细胞活力的影响。通过检测细胞活力，可以用于药效评价。

1. 制备细胞悬液，计数后铺板，每孔 100 μ L。一般建议做 3 个重复孔。
2. （可选）贴壁细胞需要在 37°C，5% CO₂ 培养箱中预培养，使细胞贴壁。悬浮细胞无需进行该步骤。
3. （可选）如需进行药物促增殖实验或者药物毒性实验，需要将待测试样品进行梯度稀释后加入培养板中。添加体积需要进行摸索以得到合适的梯度曲线。
4. 向培养板的各孔中加入 10 μ L CCK-8 溶液，注意吸头贴壁进行加样，吸头尖部略高于细胞液面。加完试剂后可以轻轻摇动培养板以帮助更好的混匀。加样时尽量避免气泡产生。
5. 将培养板放入 37°C，5% CO₂ 培养箱中孵育 1-4 h。对不同类型细胞进行实验时，建议设置梯度时间从而确定最适孵育时间。
6. 使用酶标仪在 450nm 波长处读取吸光值（OD）；
7. 细胞活力计算：

细胞存活率（%）= 【实验孔-空白孔】 / 【对照孔-空白孔】 × 100

抑制率（%）= 【对照孔-实验孔】 / 【对照孔-空白孔】 × 100

实验孔：细胞、培养基、CCK-8、待测物

对照孔：细胞、培养基、CCK-8

空白孔：培养基、CCK-8

【注】：1. 如果没有 450nm 滤光片，可以使用吸光度在 430-490nm 的滤光片。如果酶标仪有双波长功能，可以使用大于 600nm 的波长，如 650nm 作为参比波长进行双波长测定，以排除背景干扰。2. CCK-8 试剂中的 WST-8 会与还原剂反应生成甲臃，需要同步做对照孔考察背景干扰。如果干扰影响实验结果，需要想办法排除干扰。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

