

## Cell Counting Kit-8 (CCK-8试剂盒)

货号: WH1198/WH1199/WH3199/WH5199

规格: 100T/500T/3000T/5000T

保存: 4℃保存。

### 产品简介:

1. Cell Counting Kit-8 简称 CCK-8 试剂盒, 是一种基于 WST-8 的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速高灵敏度检测试剂盒。
2. 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], 它在电子载体的作用下被细胞线粒体中的一些脱氢酶还原生成橙黄色的 formazan。细胞增殖越多越快, 则颜色越深; 细胞毒性越大, 则颜色越浅。对于同样的细胞, 颜色的深浅和细胞数目呈线性关系。
3. WST-8 是 MTT 的一种升级替代产品, 和 MTT 或其它 MTT 类似产品如 XTT、MTS 等相比有明显的优点。首先, MTT 被线粒体内的一些脱氢酶还原生成的 formazan 不是水溶性的, 需要有特定的溶解液来溶解; 而 WST-8 和 XTT、MTS 产生的 formazan 都是水溶性的, 可以省去后续的溶解步骤。其次, WST-8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解。再次, WST-8 比 XTT 和 MTS 更加稳定, 使实验结果更加稳定。另外, WST-8 和 MTT、XTT 等相比线性范围更宽, 灵敏度更高。
4. WST-8 和 WST-1 相比, 检测灵敏度更高, 更易溶解, 并且更加稳定。
5. 本试剂盒可以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等对细胞有毒试剂诱导的细胞毒性检测, 或一些药物诱导的细胞生长抑制检测。
6. 本试剂盒检测非常便捷。试剂盒仅一管已经配制好的含有 WST-8 的 CCK-8 溶液, 无须再进行任何配制等操作。无须使用同位素, 所有的检测步骤仅在同一块 96 孔板内完成。不必洗涤细胞, 不必收集细胞, 也不必采用额外的步骤去溶解 formazan。可以用于大批量样品的检测。
7. 酚红和血清对本试剂盒的测定无明显影响。
8. WST-8 对细胞无明显毒性。加入 WST-8 显色后, 可以在不同时间反复用酶标仪读板, 使检测时间更加灵活, 便于找到最佳测定时间。
9. 关于不同细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒的比较和选择。

### 注意事项:

1. 由于使用 96 孔板进行检测, 如果细胞培养时间较长, 一定要注意蒸发的问题。一方面, 由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发, 可以采取弃用周围一圈的办法, 改加 PBS, 水或培养液; 另一方面, 可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方, 以缓解蒸发。
2. 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，需设法去除。

3. 用酶标仪检测前需确保每个孔内没有气泡，否则会干扰测定。

4. 使用时最好带那种透明的薄膜手套。

## 使用说明：

1. 收集对数期细胞，调整细胞悬液浓度，每孔加入 100 $\mu$ l, 铺板使待测细胞调密度至 1000–10000 孔，（边缘孔用无菌 PBS 填充）。

2. 5%CO<sub>2</sub>, 37℃ 孵育，至细胞单层铺满孔底（96 孔平底板，具体每孔所用的细胞的数目，需根据细胞的大小，细胞增殖速度的快慢等决定）。加入浓度梯度的药物，原则上，细胞贴壁后即可加药，或两小时，或半天时间，每孔 0–10 $\mu$ l，设 3–5 个复孔. 建议设 5 个。

3. 每孔加入 10 微升 CCK-8 溶液。如果起始的培养体积为 200 微升，则需加入 20 微升 CCK-8 溶液，其它情况以此类推。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。如果担心所使用的药物会干扰检测，需设置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。

4. 在细胞培养箱内继续孵育 0.5–4 小时，对于大多数情况孵育 1 小时就可以了。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，初次实验时可以在 0.5、1、2 和 4 小时后分别用酶标仪检测，然后选取吸光度范围比较适宜的一个时间点用于后续实验。

5. 在 450nm 测定吸光度。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

6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

7. 本产品仅作科研用途。

## 相关产品文献：

**1: Low expression of dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin in non-Hodgkin lymphoma and a significant correlation with b2-microglobulin**

Med Oncol (2014) 31:202 DOI 10.1007/s12032-014-0202-6.

**2: APRIL promotes non-small cell lung cancer growth and metastasis by targeting ERK1/2 signaling**

Oncotarget, 2017, Vol. 8, (No. 65), pp: 109289-109300

**3: Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation, migration, and invasion of human lung cancer cells in vivo and in vitro**

Ann Transl Med 2020;8(24):1678 | <http://dx.doi.org/10.21037/atm-20-7939>

**4: NF90 stabilizes cyclin E1 mRNA through phosphorylation of NF90-Ser382 by CDK2**

Ding et al. Cell Death Discovery (2020) 6:3 <https://doi.org/10.1038/s41420-020-0236-9>.

**5: LncRNA AY promotes hepatocellular carcinoma metastasis by stimulating ITGAV transcription**

Theranostics 2019, Vol. 9, Issue 15 4421-4436. doi: 10.7150/thno.32854.

**6: Type I  $\gamma$  phosphatidylinositol phosphate kinase promotes tumor growth by facilitating Warburg effect in colorectal cancer**

ELSEVIER EBioMedicine 44 (2019) 375–386

**7: STC2 overexpression mediated by HMGA2 is a biomarker for aggressiveness of high-grade serous ovarian cancer**

ONCOLOGY REPORTS 34: 1494-1502, 2015 DOI: 10.3892/or.2015.4120

**8: p97/VCP is highly expressed in the stem-like cells of breast cancer and controls cancer stemness partly through the unfolded protein response**

Li et al. Cell Death and Disease (2021) 12:286 doi.org/10.1038/s41419-021-03555-5.

**注： 更多使用本产品的文献请参考威奥生物官网。**