

## Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)

产品编号	产品名称	包装
C0048S	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	100次
C0048M	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	500次
C0048L	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	2500次
C0048XL	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	10000次

### 产品简介:

- 碧云天研发生产的Super-Enhanced Cell Counting Kit-8, 简称Super-Enhanced CCK-8试剂盒或超强型CCK-8试剂盒, 是一种基于WST-8用于细胞活力、增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度检测的试剂盒。本试剂盒仅需0.5至1小时即可完成检测, 和普通或增强型CCK-8试剂盒相比, 检测速度更快、灵敏度更高、线性范围更宽。本试剂盒适用于在450nm左右测定吸光度。
- WST-8是一种类似于MTT的化合物, 在电子耦合试剂存在的情况下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成橙黄色的formazan (参考图1)。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[1]。本试剂盒经过多方面的反复优化, 通过测定formazan的吸光度就可以非常高效、线性、准确地测定细胞活力。

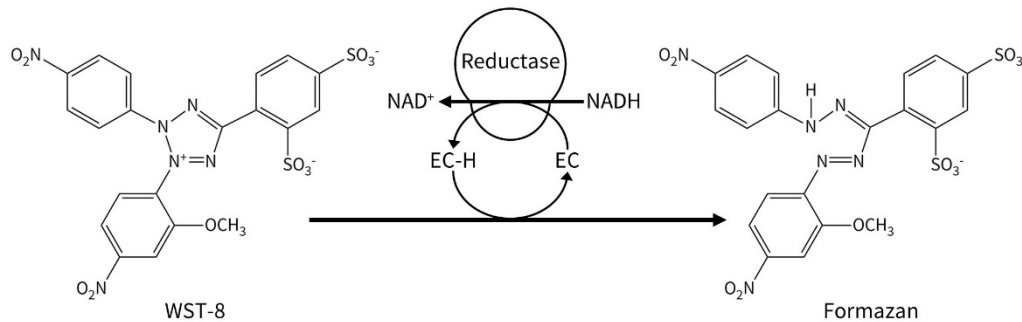


图1.碧云天Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒) (C0048)检测原理图 (EC=Electron coupling reagent, 即电子耦合试剂)。

- 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[2]。
- WST-8和WST-1相比, 检测灵敏度更高, 更易溶解, 并且更加稳定。
- 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。
- 本试剂盒经过优化, 大大缩短了孵育时间, 一般仅需0.5-1小时即可完成检测。大多数情况下, 超强型CCK-8溶液加入细胞后仅需孵育0.5-1小时就可以获得理想的信号值, 但不同的细胞类型和细胞密度等实验条件下, 所需的孵育时间可能存在一定的差别。本试剂盒与增强型CCK-8试剂盒(C0041)用于HeLa细胞活性检测效果的对比图参见图2, 检测试剂加入后仅需孵育0.5小时, 5万个HeLa的信号强度即可以达到约3.5, 信号强度是增强型CCK-8试剂盒的3倍左右。

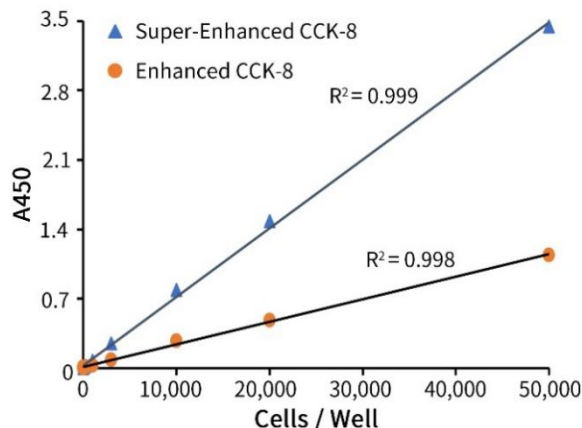


图2. 碧云天Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超增强型CCK-8试剂盒) (C0048)和Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型CCK-8试剂盒) (C0041-C0046)对不同数量HeLa细胞的检测效果对比图。不同数量的HeLa细胞100 $\mu$ l每孔接种于透明96孔板, 培养2.5小时后每孔分别加入本产品 and 增强型CCK-8溶液各10 $\mu$ l, 孵育0.5小时后测定A450, 在5万个细胞内信号强度与细胞数之间呈现出良好的线性关系, 细胞数量超过5万、或者孵育时间超过0.5小时后可能会不呈现线性关系, 但信号值还是会继续升高的。实测数据会因具体实验条件的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本试剂盒检测非常便捷。**试剂盒仅一管已经配制好的超增强型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。
- 酚红和血清对本试剂盒的测定无明显影响。
- **本产品对细胞无明显毒性。**加入超增强型CCK-8溶液显色后, 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。
- 碧云天同时提供一系列CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒, 该类试剂盒是通过化学发光法测定细胞内ATP含量从而用于超快速、超高灵敏度、高信号稳定性定量检测细胞总体活性, 通常10分钟内就可以完成一个96孔板的超灵敏检测。
- 碧云天各种细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒的比较和选择, 请参考 <http://www.beyotime.com/support/cell-proliferation.htm>。
- 按照96孔板每孔100 $\mu$ l细胞需要10 $\mu$ l超增强型CCK-8溶液, 本试剂盒每1ml可以进行100次检测。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
C0048S	超增强型CCK-8溶液	1ml
C0048M	超增强型CCK-8溶液	5ml
C0048L	超增强型CCK-8溶液	25ml
C0048XL	超增强型CCK-8溶液	100ml
—	说明书	1份

#### 保存条件:

-20°C避光保存, 一年有效。4°C避光保存, 至少2周内有效。

#### 注意事项:

- 本试剂盒反复冻融会降低检测效果。尽管经测试本试剂反复冻融3次对于其检测效果无显著影响, 为取得良好的使用效果, 第一次解冻后可适当分装保存。反复冻融过程中, 可能会出现少量沉淀, 此时宜平衡至室温, 并尽量溶解。如果预计在2周内能使用完毕, 解冻后也可以保存在4°C。
- 大多数情况下, 超增强型CCK-8溶液加入细胞后仅需孵育0.5-1小时就可以获得理想的信号值, 但不同的细胞类型和细胞密度等实验条件下, 所需的孵育时间可能存在一定的差别。
- 温度的高低会影响信号强度和信号稳定性, 反应前细胞和超增强型CCK-8溶液均需平衡至室温后再进行测定, 可将超增强型CCK-8溶液在不超过25°C的室温或20-25°C的水浴中融解并混匀后使用。
- 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, 改加相同量的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。
- 本试剂盒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。
- 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。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明:

1. 对于96孔板, 通常细胞增殖实验每孔加入100 $\mu$ l 2000个细胞, 细胞毒性实验每孔加入100 $\mu$ l 5000个细胞, 细胞的接种量根据具体的实验方案, 例如培养天数、细胞增殖速度的快慢等确定, 同时设置不含细胞的培养液孔作为阴性对照, 按照细胞培养方案培养细胞。如有需要, 可加入药物处理细胞。
2. 每孔加入10 $\mu$ l超增强型CCK-8溶液。如果起始的培养体积为200 $\mu$ l, 则需加入20 $\mu$ l超增强型CCK-8溶液, 其它情况以此类推。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、药物和超增强型CCK-8溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。
3. 在细胞培养箱内继续孵育0.5-3小时, 对于大多数情况孵育0.5-1小时左右就可以了。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、1.5、2和3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。

**注:** 大多数情况下, 超增强型CCK-8溶液加入细胞后仅需孵育0.5-1小时就可以获得理想的信号值, 但不同的细胞类型和细胞密度等实验条件下, 所需的孵育时间可能存在一定的差别。

4. 轻轻拍动96孔板, 以确保充分混匀孔内橙黄色的formazan, 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。

## 常见问题:

### 1. 超强型CCK-8溶液对细胞的毒性大小如何?

超强型CCK-8溶液对细胞的毒性非常低, 通常观察不到细胞毒性。细胞在超强型CCK-8法检测后仍然可以正常生长, 并可以用于其它的细胞实验。但为了避免超强型CCK-8溶液可能带来的对于后续检测的影响, 除非该细胞极难获得, 否则不推荐把超强型CCK-8溶液孵育过的细胞用于其它实验。

### 2. 如果吸光度值太低, 可以采取什么办法?

- 适当增加细胞数量。
- 延长加入超强型CCK-8溶液后的孵育时间。

## 参考文献:

- Stoddart MJ. Methods Mol Biol. 2011. 740:21-5.
- Ishiyama M, Miyazono Y, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K. Talanta. 1997. 44(7):1299-305.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0009	MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500次
C0035	WST-1细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	100次
C0036	WST-1细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500次
C0037	Cell Counting Kit-8 (CCK-8试剂盒)	100次
C0038	Cell Counting Kit-8 (CCK-8试剂盒)	500次
C0039	Cell Counting Kit-8 (CCK-8试剂盒)	2500次
C0040	Cell Counting Kit-8 (CCK-8试剂盒)	10000次
C0041	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型CCK-8试剂盒)	100次
C0042	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型CCK-8试剂盒)	500次
C0043	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型CCK-8试剂盒)	2500次
C0046	Enhanced Cell Counting Kit-8 (增强型CCK-8试剂盒)	10000次
C0048S	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	100次
C0048M	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	500次
C0048L	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	2500次
C0048XL	Super-Enhanced Cell Counting Kit-8 (超强型CCK-8试剂盒)	10000次
C0049S	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100次
C0049M	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	500次
C0049L	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	2500次
C0061S	CellTiter-Lumi™ 发光法3D细胞活力检测试剂盒	100次
C0061M	CellTiter-Lumi™ 发光法3D细胞活力检测试剂盒	500次
C0061L	CellTiter-Lumi™ 发光法3D细胞活力检测试剂盒	2500次
C0062S	CellTiter-Lumi™ II发光法3D细胞活力检测试剂盒	100次
C0062M	CellTiter-Lumi™ II发光法3D细胞活力检测试剂盒	500次
C0062L	CellTiter-Lumi™ II发光法3D细胞活力检测试剂盒	2500次
C0056S	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0056M	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0056L	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0056XL	CellTiter-Lumi™ II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0057S	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0057M	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0057L	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0057XL	CellTiter-Lumi™ Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0058S	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0058M	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0058L	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0058XL	CellTiter-Lumi™ Steady II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0059S	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0059M	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0059L	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	2500次

C0059XL	CellTiter-Lumi™ Steady Plus II发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0065S	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0065M	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0065L	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0065XL	CellTiter-Lumi™发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0068S	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0068M	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0068L	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0068XL	CellTiter-Lumi™ Plus发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0069S	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0069M	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0069L	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0069XL	CellTiter-Lumi™ Steady发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0070S	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	100次
C0070M	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	500次
C0070L	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	2500次
C0070XL	CellTiter-Lumi™ Steady Plus发光法细胞活力检测试剂盒	10000次
C0071S	BeyoClick™ EdU-488细胞增殖检测试剂盒	50-500次
C0071L	BeyoClick™ EdU-488细胞增殖检测试剂盒	200-2000次
C0075S	BeyoClick™ EdU-555细胞增殖检测试剂盒	50-500次
C0075L	BeyoClick™ EdU-555细胞增殖检测试剂盒	200-2000次
C0078S	BeyoClick™ EdU-594细胞增殖检测试剂盒	50-500次
C0078L	BeyoClick™ EdU-594细胞增殖检测试剂盒	200-2000次
C0081S	BeyoClick™ EdU-647细胞增殖检测试剂盒	50-500次
C0081L	BeyoClick™ EdU-647细胞增殖检测试剂盒	200-2000次
C0085S	BeyoClick™ EdU细胞增殖检测试剂盒(DAB法)	50-500次
C0085L	BeyoClick™ EdU细胞增殖检测试剂盒(DAB法)	200-2000次
C0088S	BeyoClick™ EdU细胞增殖检测试剂盒(TMB法)	500次
C0088L	BeyoClick™ EdU细胞增殖检测试剂盒(TMB法)	2000次
C2015S	Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100次
C2015M	Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	500次
C2015L	Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	2500次

Version 2023.08.30