



同仁化学研究所

细胞增殖.毒性检测选择指南

产品名称		Cell Counting Kit-L	Cell Counting Kit-8	Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST	CFSE	活死细胞双染	
用途		细胞增殖.毒性检测实验 悬浮细胞.原代细胞	细胞增殖.毒性检测实验 天数实验	细胞增殖.毒性检测实验 CAR-T.ADCC	细胞增殖.毒性检测实验	细胞增殖.毒性检测实验	
染料特点	检测方法	荧光	吸光度	吸光度	荧光	荧光	
	染料	-	WST-8	WST	CFSE	Calcein-AM&PI	
	显色后的水溶性	易溶	易溶	-	易溶	易溶	
产品特点	检测原理	细胞内的ATP活性	细胞内的酶活性	死细胞释放的LDH活性	细胞传代数	细胞膜完整性	
	优势	<ul style="list-style-type: none"> 可检测微量细胞数 (适用于原代细胞) 比吸光度法灵敏度更高 (适用于悬浮细胞) 检测时间短 (10min) 高通量筛选 新产品活动进行中 	<ul style="list-style-type: none"> 细胞毒性低 试剂稳定性高 试剂灵敏度高 操作简便 文献数量多 高通量筛选 	<ul style="list-style-type: none"> 死细胞数量直接检测 (适用于CAR-T、ADCC实验) 可以与CCK-8双重验证 高通量筛选 	<ul style="list-style-type: none"> 流式检测方法准确 荧光时间长, 可用于长时间检测细胞的增殖传代情况 	<ul style="list-style-type: none"> 免疫荧光结果, 与其他增殖毒性数据结合, 数据更充实 文献数量多 	
		缺点	<ul style="list-style-type: none"> 不适用细胞数量很多的实验 需要使用多功能酶标仪 	<ul style="list-style-type: none"> 细胞数量少或部分悬浮细胞结果趋势不明显 	<ul style="list-style-type: none"> 药物和培养基不能含有氧化性/还原性物质 	<ul style="list-style-type: none"> 不能高通量筛选 流式操作麻烦 	<ul style="list-style-type: none"> 不能高通量筛选 无法定量检测, 建议与其他方法结合使用
			产品形态	溶液+粉末	溶液	溶液+粉末	粉末
		产品货号	CK18	CK04	CK12/CK17	C375	C542

灵敏度最高

检测时间最短

操作最简便

使用Cell Counting Kit-L检测操作手册

微量细胞可检测

10分钟快速检测

性价比高

ATP是生物体内最直接的能源来源，在肌肉收缩、代谢反应、主动运输等方面被广泛使用，甚至被称作生物体内的能量货币。同仁化学研究所开发的Cell Counting Kit-Luminescence试剂盒是一种通过Luciferase来确定细胞中的腺苷三磷酸（ATP）的细胞增殖-毒性检测试剂盒。

本试剂盒只需将各试剂混合后加入孔板，10分钟后即可检测。不需要去除培养基、清洗细胞等复杂的操作。此外，本试剂盒还有诸如发光的半衰期在3小时以上、数据的重现性高、兼容96孔板、384孔板的多样品检测等诸多优点。

如何选择CCK-L&CCK-8

细胞数量

100 cells

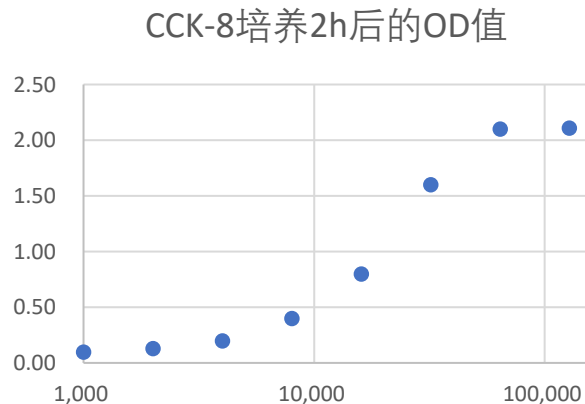
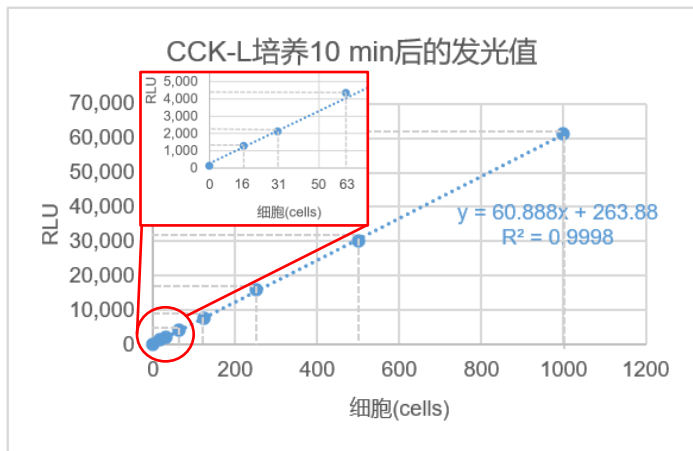
1000 cells

10,000 cells

100,000 cells

CCK-L
适用细胞量

CCK-8
适用细胞量



使用Cell Counting Kit-L检测操作手册

实验准备

▲检测仪器

-多功能酶标仪 (检测RLU发光值)

-20-200 μ l多通道移液器

-白色96孔板/白色384孔板

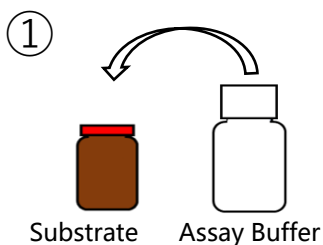
-100-1000 μ l、20-200 μ l、2-20 μ l单通道移液器

▲所需试剂

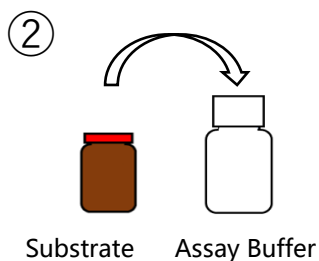
Cell Counting Kit-L 【产品货号: CK18】

细胞培养基

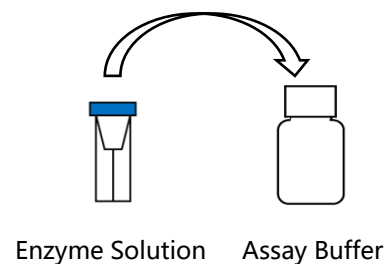
▲溶液配制 (Working Solution)



1. 向Substrate瓶中加入1 ml Assay Buffer。
*请注意瓶内为真空状态, 剥除铝制封口和打开橡胶瓶盖时请小心操作, 避免试剂飞溅。



2. 重新盖好Substrate瓶的橡胶瓶盖, 充分颠倒混匀后全部倒入Assay Buffer瓶中。

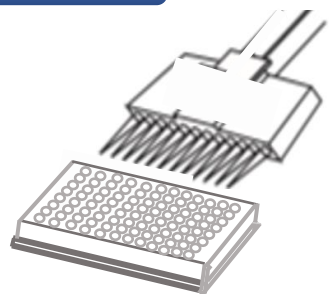


3. 向Assay Buffer瓶中加入20 μ l Enzyme solution, 充分颠倒混匀, 制成Working solution。

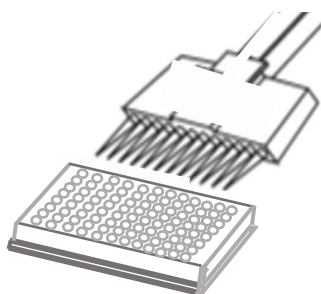
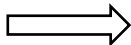
*配制好的Working solution请冷冻(-20 $^{\circ}$ C)保存。(可稳定保存10日)

使用Cell Counting Kit-L检测操作手册

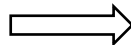
实验步骤



白色96孔板中，每孔加入100 μ l细胞悬液。



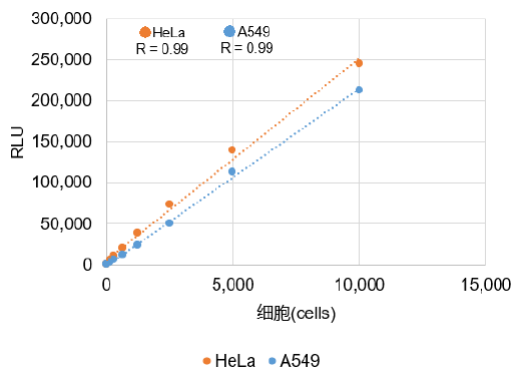
各孔中加入 100 μ l Working solution。



将孔板 静置于温度设定在 25 的酶标仪内 10 min。
检测发光值 (RLU) 【全波长】

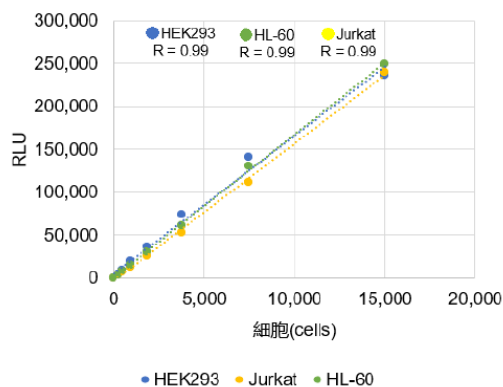
*如使用白色 384孔板，请于第1、2步，将细胞悬液及Working Solution的量调整为25 μ l

实验例



各细胞不同细胞数量，使用CCK-L检测结果

- HeLa:含10% FBS的MEM培养基
- Jurkat:含10% FBS的RPMI培养基
- HL-60:含10% FBS的RPMI培养基



- A549:含10% FBS的DMEM培养基
- HEK293:含10% FBS的DMEM培养基

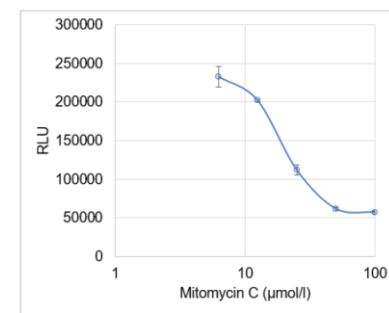


图 3. Mitomycin C 的细胞毒性评价
随着 Mitomycin C 的浓度升高，发光量减小

HeLa细胞 5,000 cells/ well
添加药物: Mitomycin C溶液 (0~100 μ mol/l)
(温度25°C 培养10min后检测发光值)

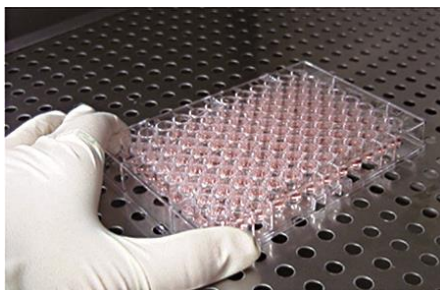
使用Cell Counting Kit-8检测操作手册

本试剂盒内底物底物“WST-8”和“CCK-8”由我司开发的，用于全世界的细胞增殖和细胞毒性测试。

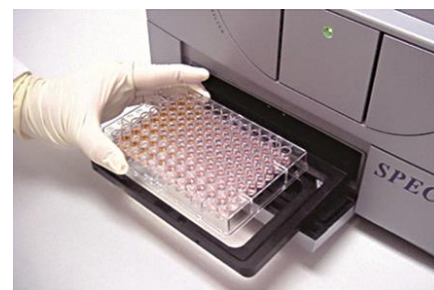
实验步骤



添加CCK-8



培养1-4 h



酶标仪检测

DOJINDO CCK-8文献

累计文献数量：29,500+篇

统计73种不同细胞对应文献，

可在同仁化学中国官网

或【同仁化学DOJINDO】公众号内查询下载
网站链接：

<https://www.dojindo.cn/#/technology>

公众号二维码：



文献No	检测对象	文献
1	A2780 (人卵巢癌)	Caroline J. Breitbach et al., "Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans." Nature, 2011, 477(7362), 99-102.
2	A549 (人肺癌)	K. Hattori et al., "Cold stress-induced ferroptosis involves the ASK1-p38 pathway." EMBO Rep., 2017, 18, 2067-2078. doi: 10.15252/embr.201744228.
3	A549 (人肺癌)	T. Ida et al., "Reactive cysteine persulfides and S-polythiolation regulate oxidative stress and redox signaling." Proc. Natl. Acad. Sci., 2014, 111(21), 7606
4	A549 (人肺癌、4%PFA固定)	R. Tanino et al., "Novel drug-resistance mechanisms of pemetrexed-treated non-small cell lung cancer." Oncotarget., 2018, 9(24), 16807-16821. doi: 10.18632/oncotarget.24704.
5	AGS (人胃腺癌)	Y. Hayakawa et al., "Apoptosis signal-regulating kinase 1 and cyclin D1 compose a positive feedback loop contributing to tumor growth in gastric cancer." Proc. Natl. Acad. Sci., 2011, 108(2), 780

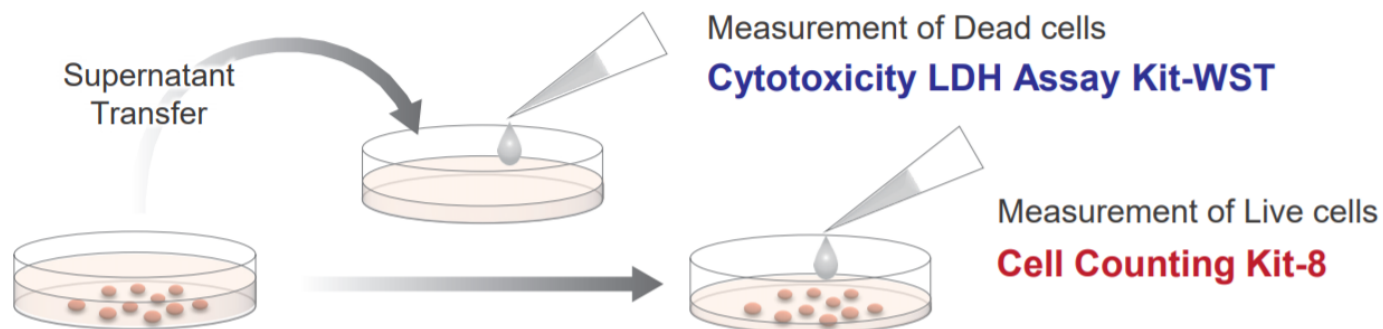
使用Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST检测操作手册

与CCK-8双重验证

ADCC实验适用

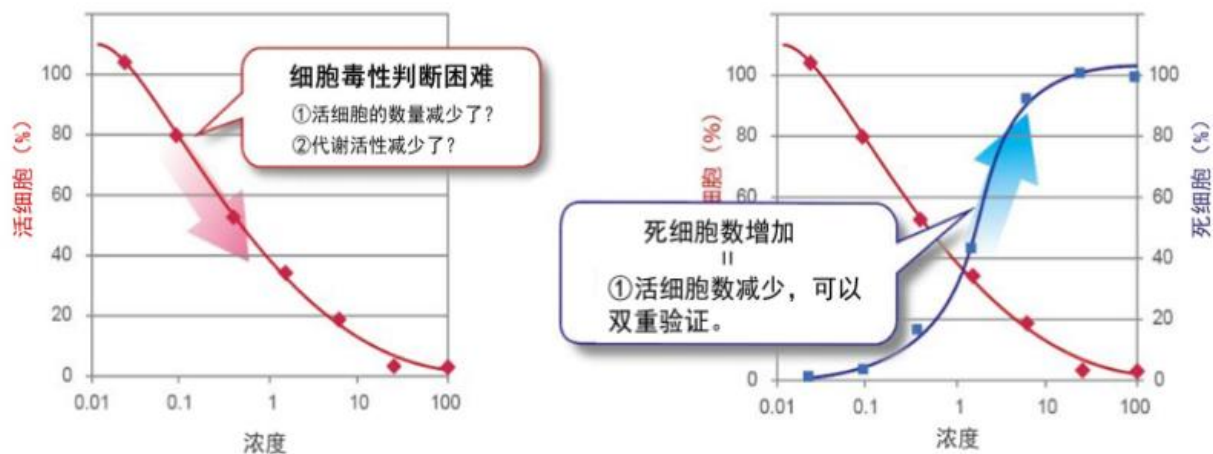
CAR-T实验适用

CCK-8与LDH同时检测



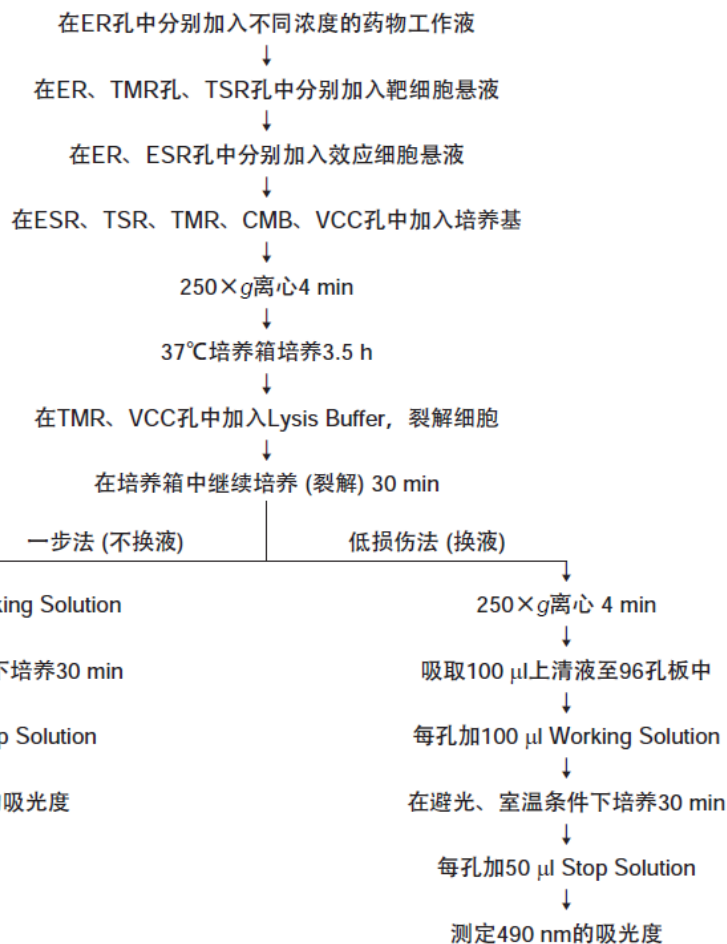
本试剂盒包括用于测量活细胞的CCK-8和用于测量死细胞的LDH分析试剂盒，两者均可通过平板分析法在相同的吸收波长下进行评估。此外，同一细胞样本可用于同时评估活细胞和死细胞，从而节省了时间和精力。

不同细胞毒性指标，双重印证。增加结果可信性



使用Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST检测操作手册

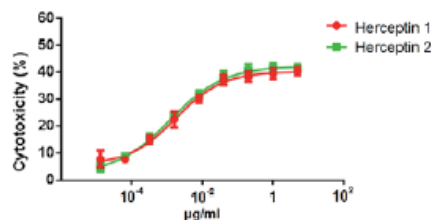
ADCC实验步骤



* 一步法 (不换液): 直接检测, 不需要取上清液检测, 省时简便, 重现性更好。

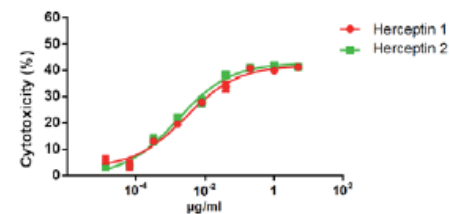
* 低损伤法 (换液): 取上清液检测 (如果需要收集活细胞进行其它实验)。

ADCC实验结果



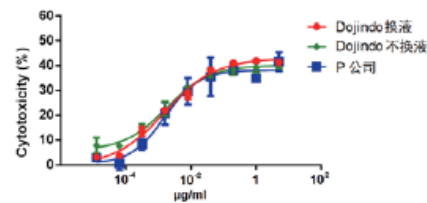
	EC ₅₀ (μg/ml)	R square
Dojindo不换液	1.780 × 10 ⁻³	0.9802
	1.218 × 10 ⁻³	0.9877

* 一步法 (不换液): 直接检测, 不需要取上清液
图2. Dojindo试剂盒一步法的2次实验对比结果



	EC ₅₀ (μg/ml)	R square
Dojindo不换液	2.754 × 10 ⁻³	0.9853
	1.600 × 10 ⁻³	0.9888

* 低损伤法 (换液): 取上清液检测
图3. Dojindo试剂盒低损伤法的2次实验对比结果



	EC ₅₀ (μg/ml)	R square
Dojindo不换液	1.780 × 10 ⁻³	0.9802
Dojindo换液	1.600 × 10 ⁻³	0.9888
P公司	1.552 × 10 ⁻³	0.9417

图4. Dojindo - P公司试剂盒的实验对比结果

结论:

1. Dojindo试剂盒数据偏差小, 和P公司产品相比, 结果相关性好。
2. 一步法和低损伤法的结果一致, 给使用人多种选择。
3. 一步法可不取上清液, 节省20-30分钟, 重现性更好。
4. 无需冷冻保存, 使用方便, 稳定性好。

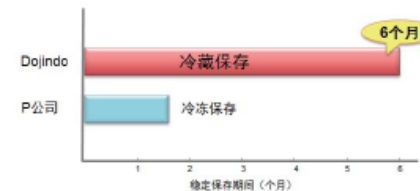
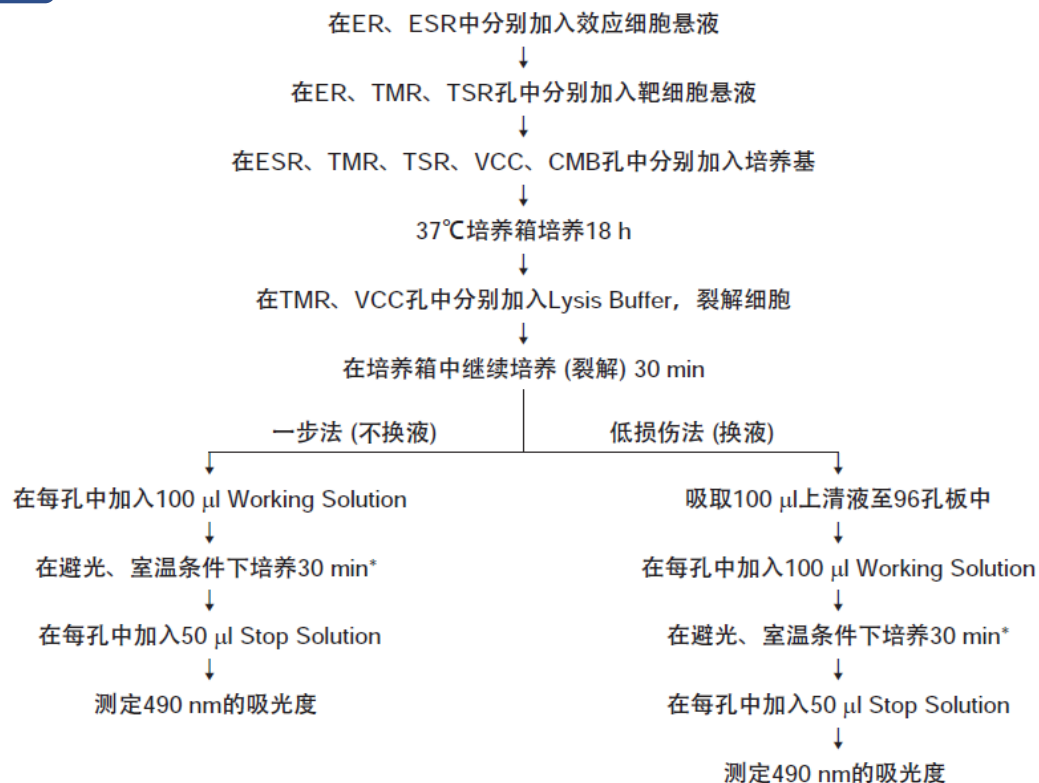


图5. Working Solution的稳定性对比

使用Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST检测操作手册

CAR-T实验步骤



* 一步法(不换液): 直接检测, 不需要取上清液检测, 省时简便, 重现性更好。

* 低损伤法(换液): 取上清液检测(如果需要收集活细胞进行其它实验)。

*加入Working Solution后的培养时间可以根据实验情况调整

CAR-T实验结果

可在同仁化学中国官网或【同仁化学DOJINDO】公众号内联系获取
<https://www.dojindo.cn>



使用CFSE检测操作手册

实验原理

荧光染料CFSE，当细胞进行分裂增殖时，具有荧光的胞质蛋白被平均分配到第二代细胞中，这样与第一代细胞相比，其荧光强度便会减弱至一半；以此类推，分裂得到的第三代细胞的荧光强度便会比第二代细胞再次减弱。这种现象可以在488nm的激发光下，采用流式细胞仪检测分析，通过检测到细胞荧光强度不断的降低，进一步分析得出细胞分裂增殖的情况。

实验步骤



准备1 ml细胞悬液，用PBS(-)等合适的培养基调整细胞浓度至约 10^6 个/ml。※



取500 μ l细胞悬液至试管中，加入适量浓度的CFSE工作液(终浓度为5 μ M)，轻轻搅拌混匀。



在37°C培养箱中培养15-30 min。



离心后去上清，加入2 ml PBS溶液，再离心后去上清，重复此操作一次。



加入合适的培养基制成细胞悬液。



使用流式细胞仪分析细胞繁殖。

实验结果

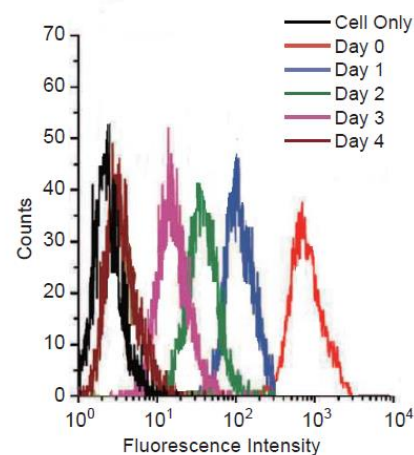


图1. CFSE标记3T3-L1细胞，荧光强度随细胞分裂(天数)减弱。

使用活死细胞双染试剂盒检测操作手册

实验原理

活死细胞双染实验结果为免疫荧光结果，其中活细胞为绿色荧光，死细胞为红色荧光。该方法经常与CCK-8、CCK-L、LDH等检测的数值结果一起发表文献。

实验结果

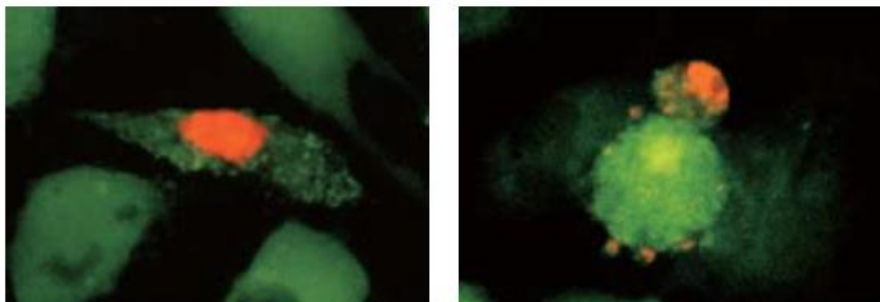


图1. 染色例

Cell line: MHD-1
激发波长: 488 nm

流式细胞仪测定效果图:

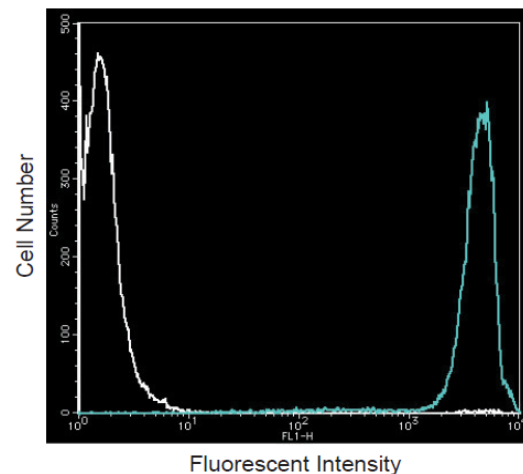


图2. HL60细胞首先用Calcein-AM染色，然后用流式细胞在488 nm检测。(白色是未染色的细胞，绿色是染色的细胞)

更多资讯

更多实验操作及文献信息可在同仁化学中国官网或【同仁化学DOJINDO】公众号内联系获取
<https://www.dojindo.cn>

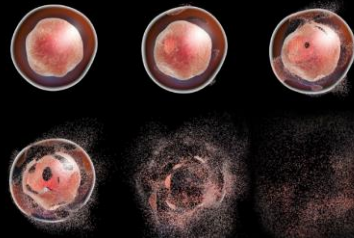


更多操作手册获取

更多实验资讯尽在同仁中国

同仁化学研究所 细胞凋亡检测系列

Caspase-3 Assay Kit -Colorimetric-
Annexin V, FITC Apoptosis Detection Kit
JC-1 MitoMP Detection Kit
Cell Cycle Assay Kit / Solution



检测细胞自噬 more easy!

DOJINDO

自噬体检测荧光试剂

自噬溶酶体检测荧光试剂

DAPGreen - Autophagy Detection

DALGreen - Autophagy Detection

DAPRed - Autophagy Detection **新产品**

同仁化学研究所 系列产品
细胞内代谢检测

一目了然
代谢通路图

可以定量检测 衰老细胞的试剂盒

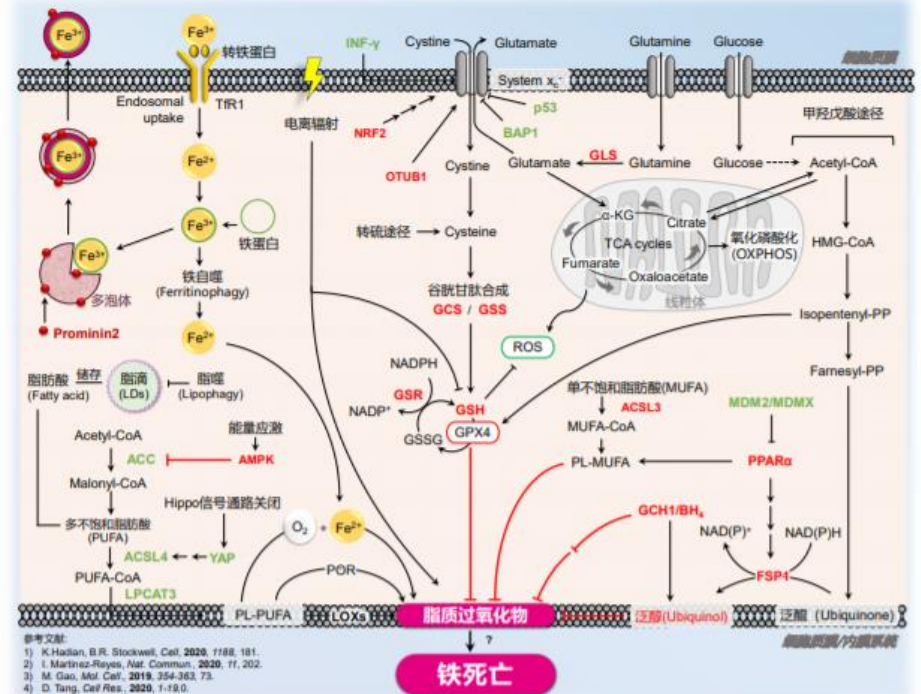
DOJINDO

Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal

Ferroptosis Pathway 铁死亡 简要通路图



DOJINDO
同仁化学研究所



铁死亡诱导剂	铁死亡抑制剂	同仁化学研究所 铁死亡检测试剂
诱导剂 Erastin, PE, IKE, erastin analogs, sulfasalazine, glutamate, sorafenib INF-γ (15, 3R)-RSL3, ML162, DPI compounds Cystine/cysteine deprivation, buthionine sulfoximine(BSO)	作用通路 抑制 system X _c → GSH 缺乏 下调system X _c 的表达 抑制 GPX4 → 脂质过氧化 抑制 GCS → GSH 缺乏	货号 / 产品名称 3248 LipoToxi 3734 FerroOrange 3448 MitoFerroGreen 3291 Iron Assay Kit-Colorimetric 3446 MitoDPPP 3923 ROS Assay Kit-Highly Sensitive DCFH-DA 3228 GSSG/GSH Quantification Kit 3229 Glutamate Assay Kit-WST
作用通路 消耗 CoQ ₁₀ 降低 GPX4水平 引发脂质过氧化, 抑制抑制GPX4 通过甲羟戊酸途径 抑制CoQ ₁₀ 的合成 带有两个或多个不饱和脂肪酸 尾部的脂质	作用通路 阻断脂质过氧化 阻断脂质过氧化 阻断脂质过氧化 整合铁离子 抗氧化作用 抑制铁的释放 阻断脂质过氧化 阻断脂质过氧化 阻断脂质过氧化	检测方法 脂质过氧化荧光探针 脂质过氧化荧光探针 脂质过氧化荧光探针 比色法Fe ²⁺ / Fe ³⁺ 检测试剂盒 高灵敏度脂质过氧化荧光探针 高灵敏度脂质过氧化荧光探针 比色法GSSG/GSH 定量试剂盒 比色法谷胱甘肽检测试剂盒
同仁化学研究所 其他关联产品		
3208 Glutamine Assay Kit-WST 3209 NAD/NADH Assay Kit-WST 3210 NAD(P)H Assay Kit-WST 3204 Glucose Assay Kit-WST 3201 α-Ketoglutarate Assay Kit-Fluorometric 3201-LD4 Lip-Blue / Green / Red / Deep Red 3205-DG (PK-DK77) GAL Green, DAPI Green, DAPI Red 3201 Mitophagy Detection Kit		