

## 增强型 CCK-8 试剂盒产品说明书

货号 : HC0854

保存: 4℃避光保存 12 个月, -20℃可更长期保存

规格 : 500T/5ml

**预期用途:** 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。

### 产品简介

CCK-8 试剂盒是基于高度水溶性的四唑盐 WST-8 (2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝基)-5-(2,4-二碘基苯)-2H- 四唑单钠盐) 而广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度检测的试剂盒。WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子介体的作用下可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成水溶性橙黄色甲瓒产物 (formazan), 产生颜色反应。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成正比。增强型 CCK-8 试剂盒检测灵敏度高于其他四唑盐 (例如 MTT, XTT, MTS 或 WST-1)。

### 产品优势

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 CCK-8 高。WST-8 和 WST-1 相比, 检测灵敏度更高, 更易溶解, 并且更加稳定。

### 产品内容

| 试剂盒组分    | 规格       | 存储条件      |
|----------|----------|-----------|
| CCK-8 溶液 | 500T/5ml | 4℃或-20℃保存 |

## 自备耗材

酶标仪（能测 450nm 处的吸光度）及二氧化碳培养箱（37°C，5%CO<sub>2</sub>） 96 孔细胞培养板，透明平底、可调节式移液枪及枪头。

## 试剂准备

CCK-8 溶液即用型；无需预混组分。

## 实验流程

### 细胞计数方案

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μL/孔)，将板在潮湿的培养箱中预先培养 (37°C, 5% CO<sub>2</sub>)；
2. 在平板的每个孔中加入 10 μL 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 1-4h；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。

### 细胞增殖/毒性检测方案

1. 在 96 孔板中接种 100 μL 细胞悬液 (5,000 个细胞/孔)，将板在潮湿的培养箱中预培养 24h (37°C, 5% CO<sub>2</sub>)；
2. 在平板中加入 1-10 μL 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 μL 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 1-4h；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 450nm 处的吸光度。

## 结果计算

细胞存活率=[(As-Ab) / (Ac-Ab)] × 100%

抑制率=[(Ac-As) / (Ac-Ab)] × 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）。

## 注意事项

1. 由于 CCK-8 分析基于活细胞中脱氢酶活性的检测，因此影响活细胞中脱氢酶活性的条件或化学物质可能 会导致实际活细胞数与使用 CCK-8 分析确定的细胞数之间存在差异；
2. 混合或重悬组分时，避免产生气泡，因为它们会影响 OD 值读取；
3. 孵育时间因孔中细胞的类型和数量而异。通常，白细胞着色较弱，因此可能需要较长的孵育时间（最多 4h）或大量细胞（~10<sup>5</sup> 个细胞/孔）；
4. 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；
5. 由于 CCK-8 的毒性低，因此相同的细胞可用于其他细胞分析。

## 【声明】

仅用于科研使用，不能用于临床诊断和治疗



互成微信公众号