

# 产品说明书

**产品名称：** CCK8试剂盒（增强型）

产品货号： KC0301

产品规格： 500次， 1000次， 3000次

## 储存条件：

-20℃避光保存两年有效， 4℃避光保存一年有效。

## 产品介绍：

CCK8试剂盒（增强型）简称 CCK8 试剂盒，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。

CCK8 工作原理：在电子耦合试剂存在的情况下，可以被线粒体内的脱氢酶还原生成高度水溶性的橙黄色的甲臞产物（formazan）。颜色的深浅与细胞的增殖成正比，与细胞毒性成反比。使用酶标仪在 450nm 波长处测定 OD 值，间接反映活细胞数量。

CCK8 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 CCK8 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，CCK8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解。再次，CCK8 比 XTT 和 MTS 更加稳定，使实验结果更加稳定。另外，CCK8 和 MTT、XTT 等相比线性范围更宽，灵敏度更高。

CCK8 应用非常广泛，如药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定、肿瘤药敏试验以及生物因子的活性检测等。

## 使用方法：

### 1. 细胞活性检测

注意：如果待测物质有氧化性或还原性的话，可在加 CCK8 之前更换新鲜培养基（除去培养基，并用

培养基洗涤细胞两次，然后加入新的培养基），去掉药物影响。当然药物影响比较小的情况下，可以不更换培养基，直接扣除培养基中加入药物后的空白吸收即可。

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液（100  $\mu$ L/孔）。将培养板放在培养箱中预培养（37℃，5% CO<sub>2</sub>）。
2. 向每孔加入 10  $\mu$ L CCK8 溶液（注意不要在孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。
3. 将培养板在培养箱内孵育 1-4 h。
4. 用酶标仪测定在 450nm 处的吸光度。
5. 若暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 10  $\mu$ L 0.1M 的 HCl 溶液或者 1%w/v SDS 溶液，并遮盖培养板避光保存在室温条件下，24 h 内测定，吸光度不会发生变化。

### 2. 细胞增殖-毒性检测

1. 在 96 孔板中配置 100  $\mu$ L 的细胞悬液。将培养板在培养箱预培养 24 h（37℃，5% CO<sub>2</sub>）。
2. 向培养板加入 1-10  $\mu$ L 不同浓度的待测物质。
3. 将培养板在培养箱孵育一段适当的时间（例如：6、12、24 或 48 h）。
4. 向每孔加入 10  $\mu$ L CCK8 溶液（注意不要再孔中生成气泡，它们会影响 OD 值的读数）。
5. 将培养板在培养箱内孵育 1-4 h。
6. 用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。
7. 若暂时不测定 OD 值，可以向每孔中加入 10  $\mu$ L 0.1 M 的 HCl 溶液或者 1%w/v SDS 溶液，并遮盖培养板避光保存在室温条件下。24h 内测定，吸光度不会发生变化。