



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

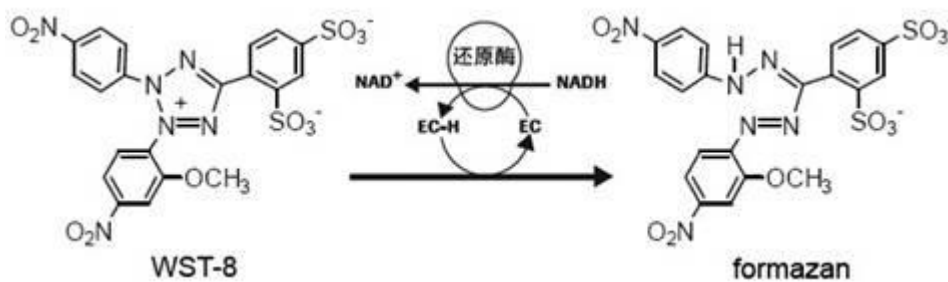
产品货号： BA00208

产品规格： 1ml(100T) / 5ml(500T) / 10\*5ml(5000T)

储存条件： 4°C 避光保存一年有效， -20°C 避光保存两年有效。

### 产品简介：

Enhanced cell Counting Kit-8，即增强型 CCK-8 试剂盒，是一种基于 WST-8 而广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的快速、高灵敏度、无放射性的比色检测试剂盒。WST-8 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 (见下图)，且细胞增殖越多越快，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 (生成的 formazan 量) 和细胞数目呈线性关系。



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。第一，MTT 被线粒体内的一些脱氢酶还原生成的 formazan 不是水溶性的，需要有特定的溶剂来溶解；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。第二，WST-8 产生的 formazan 比 XTT 和 MTS 产生的 formazan 更易溶解。第三，WST-8 比 XTT 和 MTS 更加稳定，使实验结果更可靠。第四，WST-8 和 MTT、XTT 等相比线性范围更宽，灵敏度更高，并且更加稳定。

WST-8 对细胞无明显毒性，可以直接加入到细胞样品中，无需预配各种成分；显色后，可以在不同时间反复用酶标仪读板，检测时间更加灵活，便于确定最佳测定时间；酚红和血清对本试剂盒的测定无明显影响。

### 使用说明：

本试剂盒可用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测，也可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。

### 细胞数目检测

1. 先用细胞计数板计数所制备的细胞悬液中的细胞数量，然后接种细胞。
2. 按比例依次用培养基等比稀释成一个细胞浓度梯度，设置 5-7 个细胞浓度梯度，每组 3-5 个复孔。

3. 接种后培养 2-4h 使细胞贴壁，然后每 100 $\mu$ L 培养基加 10 $\mu$ L CCK-8 试剂培养 1-4h 后测定 OD 值。
4. 最后以细胞数量为横坐标，OD 值为纵坐标绘制标准曲线。
5. 在实验条件完全一致的条件下可以根据标准曲线，推算出未知样品的细胞数量。

### 细胞活性检测

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液（以每孔不低于 5000 个/100 $\mu$ L 为宜），根据具体实验情况培养过夜或一定时间。
2. 每孔加入 10 $\mu$ L CCK-8 溶液，避免气泡生成。
3. 将培养板置于培养箱内孵育 1-4h，孵育时间需根据细胞的类型和细胞密度等具体情况而定；2h 最佳显色效果最佳。
4. 用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度；若暂时不测定 OD 值，每孔加入 10 $\mu$ L 1%SDS 或 0.1M HCl，避光室温保存，24 小时内进行测定。

### 细胞增殖-毒性检测

1. 在 96 孔板中接种细胞悬液（以每孔不低于 5000 个/100 $\mu$ L 为宜），根据具体实验情况培养细胞过夜或一定时间。
2. 每孔加入不同浓度的待测药物。
3. 将培养板在培养箱孵育一定时间。
4. 每孔加入 10 $\mu$ L CCK-8 溶液，避免气泡生成。
5. 将培养板置于培养箱内孵育 1-4h，孵育时间需根据细胞的类型和细胞密度等具体情况而定；2h 最佳显色效果最佳。
6. 用酶标仪测定 450nm 处的吸光度；若暂时不测定 OD 值，每孔加入 10 $\mu$ L 1%SDS 或 0.1M HCl，避光室温保存，24 小时内进行测定。

### 计算公式：

细胞存活率 =  $[(OD_s - OD_b) / (OD_c - OD_b)] \times 100\%$

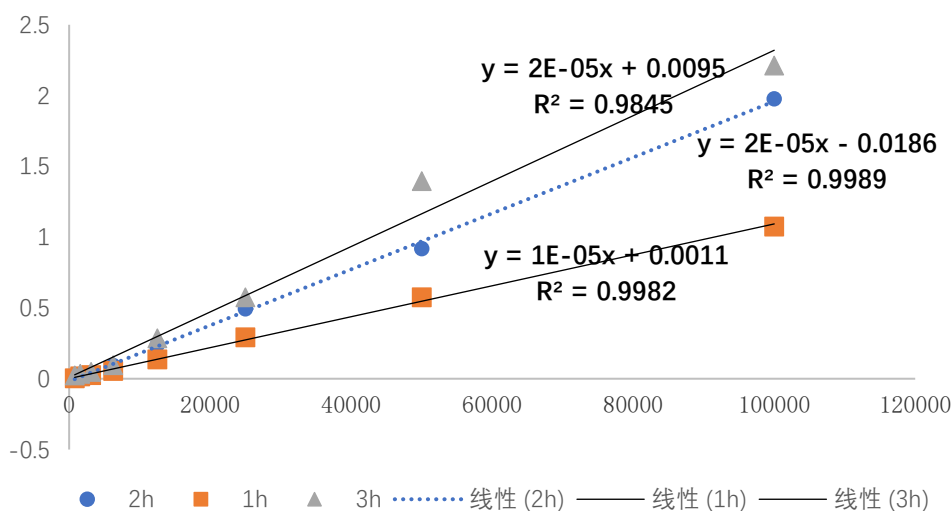
抑制率 =  $[(OD_c - OD_s) / (OD_c - OD_b)] \times 100\%$

OD<sub>s</sub>: 实验孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液和药物溶液)

OD<sub>c</sub>: 对照孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK-8 溶液，不含药物)

OD<sub>b</sub>: 空白孔吸光度 (含培养基、CCK-8 溶液，不含细胞、药物)

### 质量验证数据展示：



细胞系及细胞总量：SP2/O、10<sup>5</sup>个/100ul

培养条件：DMEM, 10%FBS; 37°C, 5% CO<sub>2</sub>;

孵育时间：1h\2h\3h

**注意事项：**

- 1 每孔所用细胞数目需根据细胞的大小、增殖速度及实验具体要求而定，建议细胞总量范围为 0-10<sup>5</sup>个/孔。
- 2 实验中可以用加了等量细胞培养液和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照；若担心所使用的药物会干扰检测，需设置加了等量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液但没有加入细胞的孔作为空白对照。
- 3 CCK-8 加入量根据培养体积确定，添加量为 10ul/100ul 培养体积。
- 4 若细胞培养时间较长，培养基颜色发生变化，建议更换培养基后再加 CCK-8 检测。
- 5 为了使 CCK-8 试剂盒培养基充分混匀，减少 CCK-8 在移液器上的残留，建议加样前用培养基稀释 CCK-8 试剂，混匀后加样。
- 6 若待测体系中含有还原剂（或抗氧化剂）会造成背景值升高，干扰检测结果，应在加 CCK-8 试剂前将其去除或折算干扰因素。
- 7 本产品保存时建议避光保存，使用时也请尽量避免强光直射。
- 8 本产品仅限于专业人员的科学研究，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 9 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。