

# Cell Counting Kit 8 (CCK8) Assay 使用說明

## 快速使用指引

1. 存放條件：避光與低溫下(<-20 °C)。
2. 可見光吸收波長：450 nm。
3. 細胞呈色條件：細胞培養液 100 μL+本產品 10 μL，於細胞培養箱內，培養 1 至 4 小時(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)。
4. 本產品正常情況下呈現粉紅色，若取出使用前已呈現黃色，請勿使用。請聯絡本公司技術人員。

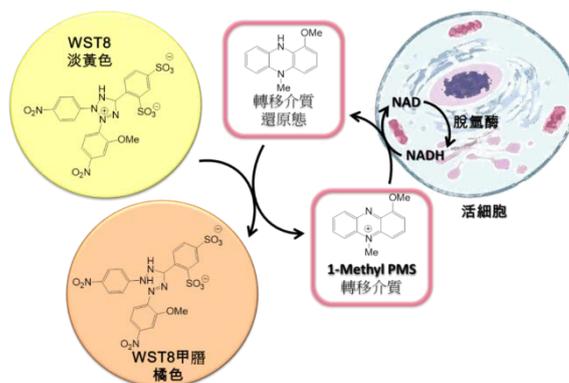
## 產品特色

本產品完全由國人自行研製，並與國外大廠之對抗品同時進行細胞實驗，染色結果相同。針對國內學研機構，回饋經濟實惠之價格，使貴機構預算達到最好的應用、推動人員接受完善的教育訓練，進而促進國內生技產業之發展。

## 原理介紹

CCK8 Assay 為細胞生物學實驗室提供了一種快速、簡單且經濟的細胞存活測試。其原理如 Fig. 1 所示，呈淡黃色之 WST8 (Water Soluble Tetrazolium 8) 水溶液，受到活細胞內脫氫酶的一連串氧化還原反應後，被還原成橘色水溶性之甲臍(formazan)產物。因此，活細胞的數目與橘色之 WST8 甲臍所呈現之顏色深淺成正比關係，可藉由偵測甲臍之吸光值(波長 450 nm)大小，來統計活細胞增殖多寡，進而分析細胞的存活比例。

Fig. 1 CCK8 原理介紹



## 使用步驟

**注意：**使用前須將試劑從-20°C冰箱中取出，在室溫下，放置 30 分鐘以上，以解凍完全。

1. 將 100 μL 細胞懸浮液培養於 96 孔盤中，再放進細胞培養箱中，培養 24 小時(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)。
2. 將 10 μL 的 CCK8 試劑直接加入每個孔洞中；或是，移除原細胞培養液之上清液後，於每個孔洞添加含有 10 μL CCK8 試劑的細胞培養液 100μL (將 CCK8 以細胞培養液稀釋 10 倍後，於每個孔洞添加 100μL)。
3. 放置上述混合液於細胞培養箱內，培養 1 至 4 小時(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)。

V2024.02.16

注意：若您不確定呈色反應時間，可每隔 10~15 分鐘測量一次 OD<sub>450</sub> 值。OD<sub>450</sub> 值可反覆測量。

4. 利用 Microplate reader 測量混合液之 450 nm 的吸光值。若呈色反應已經呈現平穩的狀態，即可停止測量。
5. 計算：

$$\text{細胞存活率(\%)} = \frac{\text{實驗組OD}_{450} - \text{實驗組空白OD}_{450}}{\text{低數值控制組OD}_{450} - \text{低數值空白OD}_{450}} \times 100\%$$

**產品優點**

1. 操作方便且試劑對細胞之毒性低。
2. WST8 甲臈為水溶性，反應後即可直接測吸光值，不需要使用有機溶劑回溶 WST8 甲臈。
3. 如 Fig. 2 所示，針對兩種不同的癌症細胞株的細胞存活率比較，CCK8 相較於傳統 MTT、MTS assay，其反應更為靈敏。

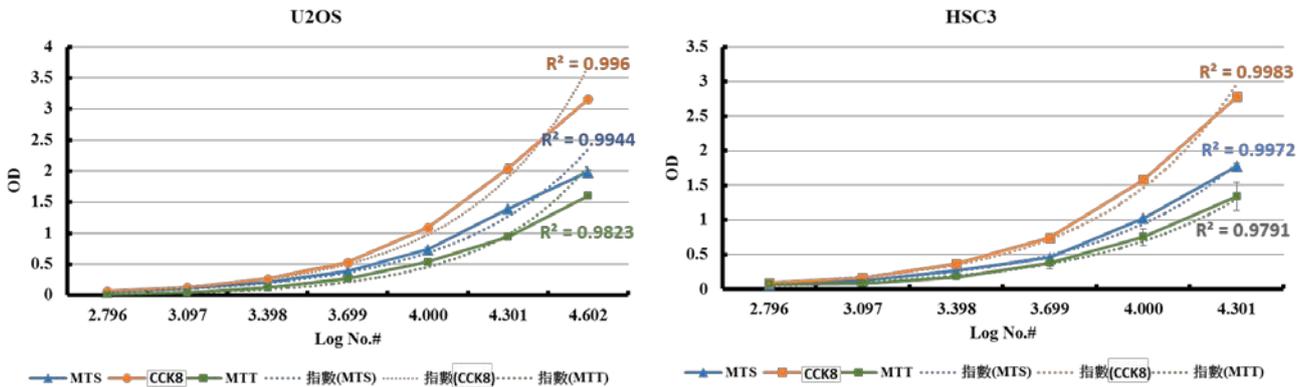


Fig. 2 MTT、MTS 與 CCK8 靈敏度比較

4. 如 Fig. 3 所示，利用小鼠視神經細胞存活率的測試來比對本產品與市售對抗品，有著幾乎相同優秀的表現。

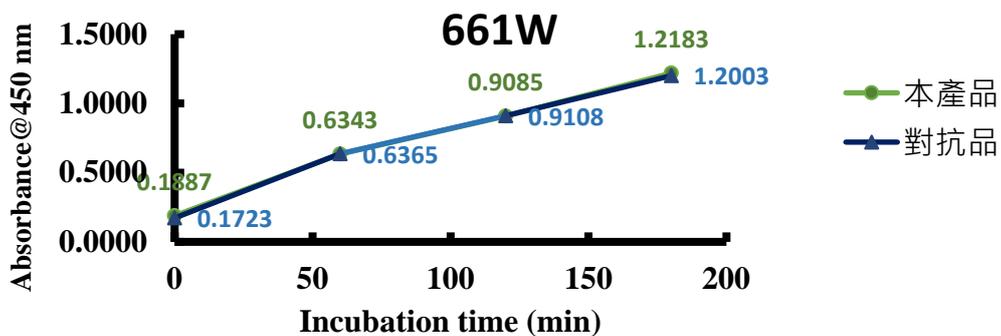


Fig. 3 本產品與市售對抗品比較

5. 如 Fig. 4 所示，檢測兩種藥物對肝癌細胞的存活影響，本產品測試細胞存活率與市售品的表現相近，且優於傳統的 MTT。

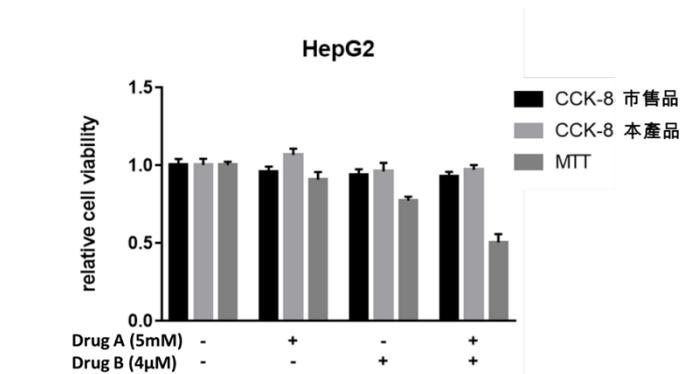


Fig. 4 本產品、市售品與傳統 MTT 檢測兩種藥物對肝癌細胞增殖分析比較

### 保存

1. 若經常使用本產品，請置於 0~5°C 冰箱裡，避光保存，於一周內用完。
2. 長時間保存請存放於 -20°C 冰箱中，避免光照，可存放逾兩年。

### 注意事項

1. 請避免反覆解凍試劑。
2. 本試劑有光敏感成分，使用及保存時，請避免光照。
3. 開封後，請勿橫放。

### 困難排除

請洽本公司技術人員。

### 參考文獻

1. Chen, Y.-C.; Chen, Y.-H.; Chiu, H.; Ko, Y.-H.; Wang, R.-T.; Wang, W.-P.; Chuang, Y.-J.; Huang, C.-C.; Lu, T.-T., Int. J. Mol. Sci. 2021, 22, 10101.
2. Sneha Sundaran, Li-Ching Kok and Hwan-You Chang., Biomedical Materials. 2023.18. 5. 055021.

\*特別感謝國內多所研究機構協助本產品測試並提供相關測試數據。

\*感謝成功大學醫學院、成功大學國際傷口修復與再生中心、清華大學醫工所、清華大學生命科學院、高雄醫學院生物科技系...等，多次選用本產品。

## 聚創新材料股份有限公司

IMT FORMOSA New Materials Co.

電話 Phone: 0926-159317

電郵 Email: [polycreatives@outlook.com](mailto:polycreatives@outlook.com)

聯絡人 Contact: Peter Hsu

