

## Enhanced Cell Counting Kit 8 (CCK8/WST-8)

### 增强型细胞活力检测试剂盒(CCK8/WST-8)

货号: FNCK064

规格: 100T/500T

检测样本: 细胞

保存条件: 避光保存, 2-8℃保存一年有效, -20℃保存2年有效。

#### 实验原理

增强型 CCK8 试剂盒, 简称 WST-8, 是一种基于 WST-8 的快速、高灵敏度, 用于细胞活力、增殖和细胞毒性检测的试剂盒。该试剂盒只需 0.5-1 小时即可完成测试, 并且比传统 CCK-8 试剂盒更快, 更敏感, 并且具有更宽的线性范围。本试剂盒适用于 450nm 左右吸光度的测定。

WST-8 是一种类似于 MTT 的化合物, 在电子偶联试剂存在的情况下, 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原, 生成橙黄色可溶性的 formazan。细胞增殖得越多越快, 颜色就越深; 细胞毒性越强, 颜色越浅。颜色的深度和细胞数目之间存在线性关系。

与 WST-1 相比, WST-8 更检测灵敏度更高, 更易溶解, 更加稳定。

本试剂盒经过优化, 培养时间大大缩短, 一般仅需 0.5-1 小时即可完成检测。

本试剂盒检测非常便捷, 只有一管配置好的增强型 CCK-8 溶液, 不需要进一步制备和其他操作。无须使用同位素, 所有的检测步骤都在同一个 96 孔板上进行。

酚红和血清对试剂盒的测定无显著影响。

本品对细胞无明显毒性。加入增强 CCK-8 溶液后, 可在不同时间反复用酶标仪读板, 使检测时间更加灵活, 方便找到最佳测定时间。

96 孔板每 100  $\mu$ l 细胞需要 10  $\mu$ l 增强 CCK-8 溶液, 该试剂盒每 1ml 可进行 100 次检测。

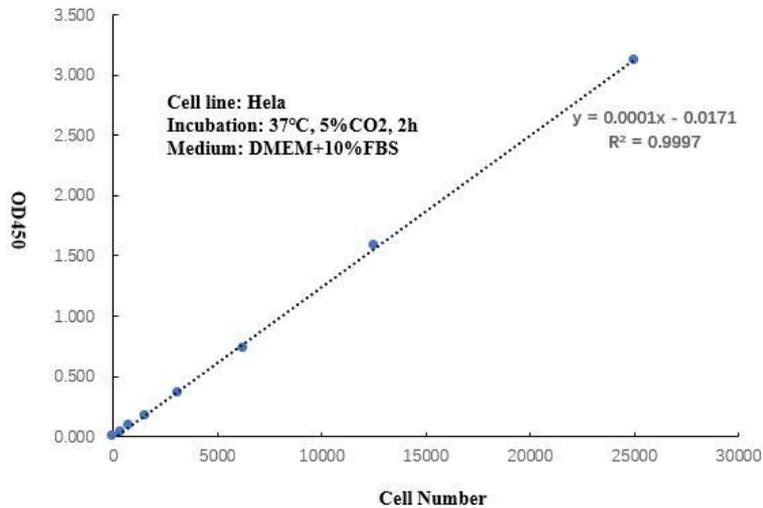
#### 试剂盒组份

Components	100 T	500 T
enhanced CCK-8 solution	1mL	1mL*5

#### 实验步骤

- 通常细胞增值实验每孔中加入 100 微升 2000 个细胞, 细胞毒性实验每孔中加入 100 微升 5000 个细胞(每孔使用的细胞数量, 需要根据细胞大小、细胞增殖速度等因素决定), 同时设只有细胞培养基的孔作为阴性对照。按细胞培养程序培养细胞, 根据实验需要可加入药物刺激细胞。
- 按照每 100  $\mu$ l 培养液加入 10  $\mu$ l enhanced CCK-8 solution 的比例加入增强型 CCK-8 溶液。如果担心药物会干扰检测, 需设置加了相应量细胞培养液、药物和 enhanced CCK-8 solution, 但没有细胞的孔作为空白对照。
- 在细胞培养箱继续培养 0.5-3 小时, 对于大多数情况孵育 1 小时就可以了。时间的长短根据细胞类型和细胞密度等情况而定, 初次实验可以在 0.5、1、2 和 3 小时后分别用酶标仪检测, 然后选取吸光度范围比较适宜的一个时间点用于后续实验。
- 在 450nm 测定吸光度, 如无 450nm 滤光片, 可以使用 420-480nm 滤光片。
- 将不同数量的 HeLa 细胞按照每孔 100  $\mu$ l 培养液接种到 96 孔板中, 培养至细胞贴壁充分后, 每孔加入

10  $\mu$ l enhanced CCK-8 solution 孵育 2 小时后测定 OD450, 检测效果图参考下图。检测效果仅供参考, 实测数据会因检测仪器等的不同而存在差异。



#### 6. 结果计算:

$$\text{细胞存活率(\%)} = \frac{OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

#### [注]:

OD<sub>sample</sub>: 实验孔的 OD 值

OD<sub>control</sub>: 对照孔的 OD 值

OD<sub>blank</sub>: 空白孔的 OD 值

## 注意事项

1. 试剂盒反复冻融会降低检测效果, 虽然该试剂在反复冻融 3 次后对检测效果无明显影响, 但可在第一次解冻后分装成小规格。反复冻融过程中, 可能出现少量沉淀, 应将其平衡至室温, 并尽可能溶解。
2. 多数情况下, 在细胞中加入增强型 CCK-8 溶液孵育 0.5-1 小时可获得理想结果, 但孵育时间因细胞类型、细胞密度等实验条件的不同而不同。
3. 信号强度和稳定性会受到温度的影响。反应前, 将细胞和增强型 CCK-8 溶液平衡至室温。
4. 由于使用 96 孔板进行检测, 如果细胞培养时间较长, 一定要注意蒸发问题。一方面, 由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发, 可以采取弃用周围一圈的办法, 改加相同量的 PBS、水或培养液; 另一方面, 可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方, 以缓解蒸发。
5. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应, 所以还原剂(例如一些抗氧化剂)会干扰检测, 如果待检测体系中存在较多的还原剂, 需设法去除。
6. 用酶标仪检测前需确保每个孔内没有气泡, 否则会干扰测定。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。