



增强型CCK-8 细胞活力检测试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100138

产品简介

增强型 CCK-8 细胞活力检测试剂盒，是一种基于 WST-8 (2-(2-甲氧基-4-硝苯基)-3-(4-硝苯基)-5(2,4-二硝基苯)-2H-四唑单钠盐) 的显色反应，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 在电子耦合载体 1-Methoxy PMS 的作用下可被线粒体内的脱氢酶还原成高度水溶性的橙黄色甲臌产物(formazan)，生成的甲臌量与活细胞数成正比，与细胞毒性成反比，使用酶标仪在 450 nm 波长处测得吸光值，间接反映活细胞数量。本试剂盒的 CCK-8 溶液加入特殊配方，提高了试剂的灵敏性，为即用型试剂，可直接加入到细胞样品中，孵育一定时间后即可检测，不需要预配各种成分。

产品目录

产品名称	规格
增强型 CCK-8 细胞活力检测试剂盒	500 rxns
	2500 rxns

产品组成

组分	500 rxns	2500 rxns
增强型 CCK-8 溶液	5 mL	5 mL×5

产品用途

本产品适用于细胞增殖测试、细胞毒性测试和药物筛选等实验。

产品特点

操作简便：即开即用，无需配制其他试剂。

灵敏度高：灵敏度、线性相关性高，重复性好。

细胞毒性低：对细胞毒性低，不影响后续实验。

注意事项

1. 本试剂为粉红色液体，应置于-20℃保存，尽量避免反复冻融，使用时需避光操作。
2. 首次实验时，建议先摸索最佳的细胞接种数目以及最佳的 CCK-8 溶液的孵育时间（常规孵育时间为 30 min ~ 2 h）。
3. 实验操作中避免产生气泡。
4. 本试剂盒的检测是依赖于脱氢酶催化的反应，还原性物质以及氧化性物质均会干扰检测，使用前应先去除干扰物质再加 CCK-8 溶液进行检测。
5. 进行药物抑制实验时，如果药物中含有金属离子（ Pb^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等）会影响 CCK-8 溶液的显色反应，最终导致检测的灵敏度降低。
6. 测定细胞数量时，为保证单次实验结果的稳定性和重复性，建议每次同时做标准曲线。

操作步骤

1. 制作标准曲线
 - a. 消化收集细胞，计数确定细胞密度，然后接种细胞；
 - b. 按比例依次用培养基等比稀释细胞，一般做 5 ~ 7 个细胞浓度梯度，每组 3 ~ 6 个复孔，接种至 96 孔板中，每孔加入 100 μ L 的细胞悬液；



c. 每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液，轻轻混匀，在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中孵育一定时间（依不同的细胞种类而定，一般是 30 min ~ 2 h）。酶标仪测定 450 nm 处的吸光值，制作出一条以细胞数量为横坐标，吸光值为纵坐标的标准曲线。根据此标准曲线可以测定出未知样品的细胞数量，使用此标准曲线的前提条件是试验条件完全一致。

2. 细胞活性检测

- a. 接种细胞于 96 孔板中（100 μ L/孔），建议可以设置不同细胞浓度梯度，预培养 18 ~ 24 h，同时设置空白组和对照组；
- b. 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液（建议沿细胞板壁加入，轻晃，避免气泡产生）；
- c. 在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中孵育一定时间（依不同的细胞种类而定，一般是 30 min ~ 2 h）；
- d. 酶标仪测定 450 nm 处的吸光值；
- e. 若暂时不测定吸光值，可以向每孔中加入 10 μ L 0.1M 的 HCl 溶液或者 1% SDS（w/v）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。

3. 细胞增殖-毒性检测

- a. 接种细胞于 96 孔板中（100 μ L/孔，避免气泡产生）预培养 18 ~ 24 h，同时设置空白组和对照组；
- b. 每孔分别加入不同浓度的待测药物，在培养箱中孵育一段时间（依据待测药物而定）；
- c. 向每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液（建议沿细胞板壁加入，轻晃，避免气泡产生），37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育一定时间；
- d. 酶标仪测定 450 nm 处的吸光值；
- e. 若暂时不测定吸光值，可以向每孔中加入 10 μ L 0.1M 的 HCl 溶液或者 1%SDS（w/v）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。

4. 计算公式

细胞存活百分比= $[(A-C)/(B-C)] \times 100\%$
抑制百分比= $[(B-A)/(B-C)] \times 100\%$
A：实验组吸光值（含有培养基、细胞、待测药物和 CCK-8 溶液的吸光值）
B：对照组吸光值（含有培养基、细胞、CCK-8 溶液的吸光值）
C：空白组吸光值（含有培养基、CCK-8 溶液的吸光值）

■ 储存及运输条件

-25 ~ -15 $^{\circ}$ C 避光保存 24 个月，冰袋运输。

■ 常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
吸光值过高	细胞数目过多	减少细胞数量，建议实验前设定几个不同细胞数量的孔进行条件摸索。
	孵育时间过长	缩短孵育时间。
吸光值过低	细胞数目过少	增加细胞数量，建议实验前设定几个不同细胞数量的孔进行条件摸索。
	孵育时间过短	延长孵育时间。
	细胞活性过低	增加细胞数量或延长孵育时间。
孔间差异较大	孔中有气泡	刺破或使用吹风机轻吹以消除气泡
	培养板的边际效应	孔板最外侧孔中只加培养基，不用作实验孔。
	加入本试剂后没有充分混匀	更换新鲜的培养基并加入本试剂，轻弹使充分混匀。