

# Cell Counting Kit-8 (CCK-8)

## 产品组分

产品组分	Cat#:B34302	Cat#:B34304
规格	5 mL	25 mL

## 储存方法

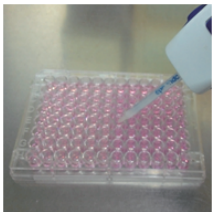
Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 在避光条件下可在室温保质期6个月，2-8°C保质期2年，-20°C及以下可保存更长时间。

## 实验方法

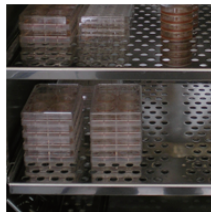
### 需要的但不包括在该试剂盒中的实验器材

- 酶标仪
- 多道移液器
- 3 % SDS (可选)

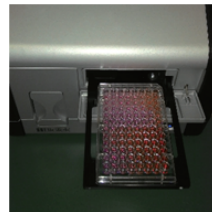
### 实验流程简图



Add 10% (v/v) Vita-Orange Cell Viability Reagent



Culture for 0.5-4 hours



Record OD450nm

1. 接种细胞并生长4-24小时，然后开始检测。一般地， $10^3$ - $10^6$ 个细胞足够一次检测。

2. 在细胞培养液中直接加入1/10体积的Cell Counting Kit-8 (CCK-8)，充分混合，保证孔中蓝色均一性，但避免气泡产生。对96孔板，每100  $\mu$ L培养液加入10  $\mu$ L活性检测试剂。

3. 于37°C培养箱中培养0.5-4小时至颜色变为橙色。应避免过夜培养。

4. 用酶标仪测量在450 nm处的吸收光。一般的OD值在0.5-2.5之间，典型的在0.8-1.5之间。

注意：在添加Cell Counting Kit-8 (CCK-8)的细胞培养基中，在450nm处会有轻微的自发吸收值。该荧光背景随培养基、pH值、培养时间、暴露于光线的时间等因素的变化而变化。典型的吸收值在孵育2小时后为0.1-0.2。为了纠正背景，准备一个或多个无细胞的对照孔，计算其平均的荧光值，然后从试验孔中扣除该值。

5. 可选步骤：在100  $\mu$ L细胞中加入10  $\mu$ L 3 % SDS 以终止反应，可在2天内读取数据。

## 常见问题及对策

常见问题	可能原因	建议
荧光值过高	孔中细胞过多	减少细胞数量：建议事先优化细胞数量与荧光值之间的关系
	孵育时间过长	缩短孵育时间
荧光值过低	孔中细胞数量过少	增加细胞数量
	细胞活性过低	增加细胞数量或延长孵育时间
	孵育时间短	延长孵育时间至24小时
	读数时用了错误的波长	应用合适的滤光片或双波长进行测定（检测波长450-490 nm，参比波长600-650 nm）
	孵育时间过长	由于粉红色荧光的试卤灵能够进一步被还原为无色的氢化试卤灵，故应事先优化孵育时间。
环境低氧	由于试卤灵在低氧时颜色会减弱，故应置于常氧中操作。	
荧光由死细胞发出。	测试的化合物对刃天青有还原作用。	更换培养液以洗去测试化合物，重新加入本试剂检测。
	细胞裂解物可能还原刃天青。	更换新鲜的培养基并加入本试剂检测。
孔间数据变化大	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。
	本试剂在冻融后没有充分混匀。	更换新鲜的培养基，加入混匀后的本试剂。
	孔中有气泡。	用牙签刺穿气泡。
	孔间细胞差异大。	重新接种细胞再实验。
	培养板的边际效应。	在最外侧的孔中只加培养基，而不用做实验。
可能本试剂由于多次冻融而降解。	确保本试剂在0-5°C避光保存。不要使用过期的产品。	

