

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

MTT 比色法是一种检测细胞存活和生长的方法。MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit)被广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的检测。MTT 检测原理为活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT 还原为水不溶性的蓝紫色 Formazan 并沉积在细胞中，而死细胞无此功能。在特定溶剂存在的条件下，可以被完全溶解。然后通过酶标仪可以测定 570nm 波长附近的吸光度。细胞增殖越多越快，则吸光度越高；细胞毒性越大，则吸光度越低。

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒采用了自主研发 Formazan solvent，使检测本底低，灵敏度高，线性范围宽。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500T/100T/2500T	RT	1 份	1 年
试剂(A): MTT solution(5mg/ml)	5ml	-20℃ 避光	1 份	1 年
试剂(B): Formazan solvent	60ml	RT	1 份	1 年

自备材料：

- 1、细胞培养液
- 2、胰蛋白酶消化液
- 3、低速离心机
- 4、96 孔培养板
- 5、细胞计数板或计数器
- 6、细胞培养箱
- 7、摇床
- 8、显微镜
- 9、酶联免疫检测仪

操作步骤(仅供参考):

- 1、细胞用含血清的培养液培养至对数生长期，常规胰蛋白酶消化液消化细胞(悬浮细胞无需消化)。
- 2、低速离心，收集细胞沉淀。
- 3、用培养液重悬细胞沉淀，制备成单细胞悬液，并计数。
- 4、细胞接种于 96 孔培养板，一般接种密度为 3000~10000 个细胞/孔。通常细胞增殖实验每孔加 3000 个细胞，细胞毒性实验每孔加入 6000 个细胞。具体每孔所用的细胞的数目，需根据细胞的大小，细胞增殖速度的快慢等决定。
- 5、37℃ 5%CO₂ 继续培养或按照实验具体需要进行培养，一般培养 6~24h。
- 6、按照实验具体要求，给予 0~20 μl 干预药物处理，37℃ 5%CO₂ 继续培养至合适时间。
- 7、弃培养液，每孔加入 10 μl MTT solution 和 100 μl 新鲜培养液，在细胞培养箱内继续孵育 4h。
- 8、弃培养液，每孔加入 110 μl Formazan solvent，置摇床上低速振荡 10 min，使结晶物充分溶解。如果紫色结晶较小或较少，溶解的时间会短一些。如果紫色结晶较大或较多，溶解的时间会长一些。
- 9、在酶联免疫检测仪 570nm 测定各孔吸光度。

注意事项:

- 1、MTT solution 尽量减少反复冻融的次数，当颜色变为灰绿色时，请勿使用。
- 2、由于使用 96 孔板进行检测，如果细胞培养时间较长，应注意蒸发问题。
- 3、MTT solution 在低温情况下会凝固，置于室温或 20~25℃水浴至全部融解后使用。
- 4、Formazan solvent 可以-20℃储存，当产生沉淀或凝固时可以 37℃水浴孵育以促进溶解，并且必须在全部溶解并混匀后使用。
- 5、观察 formazan 是否完全溶解，亦可以借助光学显微镜观察。
- 6、培养细胞时尽量细菌避免污染。
- 7、应注意设立 OD 调零孔和对照。
- 8、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品:

ABTS 缓冲液 (pH5.0)
ABTS 试剂
CA 缓冲液 (pH7.5)
CCCP 溶液 (10mmol/L)
HEPES-CHAPS 缓冲液 (pH7.5)
JC-1 溶液 (2mmol/L)