

## MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

### 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 FormazanSolvent，使检测本底低，灵敏度高，线性范围宽。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成

名称 \ 编号	ADS007CT0 100T	ADS007CT1 500T	ADS007CT2 2500T	Storage
试剂(A): MTT Solution(5mg/ml)	1ml	5ml	25ml	-20℃ 避光
试剂(B): Formazan Solvent	12ml	60ml	300ml	RT
使用说明书	1 份			

### 自备材料

- 1、细胞培养液、胰蛋白酶消化液
- 2、低速离心机、96孔培养板、细胞计数板或计数器、摇床、显微镜、酶标仪

### 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%CO<sub>2</sub> 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 ~ 20μl 干预药物处理，37℃ 5%CO<sub>2</sub> 继续培养至合适时间。

- 7、弃培养液，每孔加入 10 $\mu$ l MTT Solution 和 100 $\mu$ l 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 $\mu$ l 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、在酶标仪 570nm 测定各孔吸光度。

### 注意事项

- 1、MTT Solution(5mg/ml)为黄色，需避光保存，长时间光照会导致失效。尽量减少反复冻融的次数，以免失效，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 $^{\circ}$ C 水浴至全部融解后使用。
- 4、Formazan Solvent 可以-20 $^{\circ}$ C 储存，当产生沉淀或凝固时可以 37 $^{\circ}$ C 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、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12个月。低温运输，按要求保存。