

## 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。

Leagene MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒采用了 Leagene 自主研发 Formazan Solvent, 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	CT0026	CT0026	CT0026	Storage
		100T	500T	2500T	
试剂(A): MTT Solution(5mg/ml)		1ml	5ml	25ml	-20°C 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°C 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°C 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 个月有效。低温运输，按要求保存。

**相关产品：**

产品编号	产品名称
CC0130	胰蛋白酶-EDTA 溶液(0.25%:0.02%)
CT0025	MTT 溶液(5mg/ml)
DA0065	台盼蓝染色液(0.4%)
NR0001	DEPC 处理水(0.1%)
PW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
TC0713	葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)