

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

Cat #:GK3605-250T

一、试剂盒组成、规格、储存:

成分	250T	储存
MTT Solution	5ml (1ml×5)	-20℃避光保存
Formazan dissolution	40ml (20ml×2)	2-25℃保存

二、产品简介:

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒 (MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit) 是一种被广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的实验方法。由于细胞活力与细胞数呈正相关, 因此常常用来检测细胞的增殖情况。MTT 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成结晶状的深紫色产物 Formazan。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 490nm 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。

三、注意事项

- 1、由于使用96孔板进行检测, 如果细胞培养时间较长, 一定要注意蒸发的问題。由于96孔板周围一圈最容易蒸发, 可以采取加PBS、水或培养液防止实验孔蒸发; 另一方面, 可以把96孔板置于靠近培养箱内水源的地方, 减缓蒸发;
- 2、Formazan dissolution 结冻时可以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;
- 3、MTT Solution 孵育时, 需避光;
- 4、使用时如发现Formazan dissolution 呈绿色, 则不可使用, 尽量避免反复冻融影响品质。
- 5、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

四、储存条件

MTT Solution 需-20℃保存, Formazan dissolution 低温结晶, 可4℃储存, 也可室温储存。

运输温度 4℃。

五、使用方法 (仅供参考):

- 1、普通 MTT 法实验步骤: (以做贴壁细胞生长曲线为例)
 - 1) 胰蛋白酶消化细胞成单细胞悬液;
 - 2) 接种细胞: 用含 10%FBS 培养基配成单个细胞悬液, 以每孔 1000-10000 个 (不同系细胞生长速度不同, 接种密度不同) 接种到 96 孔板 (平底板), 每孔培养液体积 200ul。
 - 3) 培养细胞: 同样的培养条件, 连续培养 3-5 天。
 - 4) 呈色反应: 培养过程中, 每隔 12h 或 24h 取出一个 96 孔板, 每孔加入 20ul MTT Solution, 继续孵育 4 h。
 - 5) 终止培养, 小心吸弃孔内培养上清液, 对于悬浮细胞需要离心后再吸弃孔内培养上清液。每孔加 150ul Formazan dissolution, 振荡 10min, 使结晶物充分融解。
 - 6) 比色: 选择 490nm 波长, 在酶联免疫监测仪上测定各孔光吸收值, 记录结果, 以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制细胞生长曲线。
 - 2、药物毒性 MTT 法实验步骤 (贴壁细胞):
 - 1) 胰蛋白酶消化细胞成单细胞悬液;
 - 2) 接种细胞: 收集对数期细胞, 调整细胞悬液浓度, 每孔加入 100ul 铺板使待测细胞调密度 1000-10000 个/孔。
 - 3) 细胞培养并加药: 5%CO₂, 37℃孵育, 至细胞单层铺满孔底 (96 孔平底板), 加入浓度梯度的药物, 原则上细胞贴壁后即可加药, 一般 5-7 个梯度, 每孔 100ul, 设 3-6 个复孔, 建议设 6 个。
 - 4) 同时设置调零孔 (培养基、MTT Solution、Formazan dissolution), 对照孔 (细胞、相同浓度的药物溶解介质、培养液、MTT Solution、Formazan dissolution)。
 - 5) 5%CO₂, 37℃孵育 16-48h, 倒置显微镜下观察细胞形态。
 - 6) 为了避免加入的药物可能与 MTT 发生反应影响试验结果, 加入 MTT 溶液前更换新鲜培养基, 每孔 180ul。
 - 7) 呈色反应: 每孔加入 20ul MTT Solution, 继续培养 4h。
 - 8) 终止培养, 小心吸弃孔内培养上清液, 每孔加 150ul Formazan dissolution, 振荡 10min, 使结晶物充分融解。
 - 9) 比色: 选择 490nm 波长, 在酶联免疫监测仪上测定各孔光吸收值, 记录结果。
- *如果所用细胞是贴壁性不强的细胞或是悬浮细胞, 则在每一步需要换液加药, 吸上清液之前先离心后在进行操作。建议使用 GK3607 (Cell Counting Kit-8)。