# 产品简介：

**MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒**

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。在特定溶剂存在的情况下，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：

试剂(A): MTT solution(5mg/m)

500T

5ml

-20℃ 避 光

试剂(B): Formazan solvent

60ml RT

# 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 0～20μl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 10μl MTT solution 和 100μl 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 110μl 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。

**有效期：** 12 个月有效。