

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

货号：PMK1906

保存：4℃避光保存 12 个月；-20℃可更长期保存；MTT 配制成溶液后需-20℃避光保存。

规格：100T/500T/2500T

预期用途：本试剂盒可以用于细胞因子等诱导的细胞增殖检测，也可以用于抗癌药物等对细胞有毒试剂诱导的细胞毒性检测，或一些药物诱导的细胞生长抑制检测。

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)是一种非常经典的细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒，被广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的检测。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。对于同样的细胞，颜色的深浅和细胞数目成正比。

产品内容

试剂盒组分	规格			储存条件
	100T	500T	2500T	
MTT	5mg	5×5mg	5×25mg	4℃或-20℃保存
MTT 溶剂	1.5mL	6mL	30mL	4℃或室温保存
Formazan 溶解液	12mL	55mL	255mL	4℃或室温保存

自备耗材

酶标仪（能测 570nm 处的吸光度，如无 570nm 滤光片，可以使用 560-600nm 的滤光片）

二氧化碳培养箱（37℃，5% CO₂）

96 孔细胞培养板，透明平底、可调节式移液枪及枪头

平板离心机（可选）

试剂准备

MTT 溶液的配制：按 1ml MTT 溶剂溶解 5mg MTT 的比例，配制成 5mg/mL 的 MTT 溶液，经 0.22 μm 滤膜过滤除菌。配制后即可使用，或适当分装后-20℃避光保存。

实验流程

- 通常细胞增殖实验每孔加入 100 微升 2000 个细胞，细胞毒性实验每孔加入 100 微升 5000 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)。按照实验需要，进行培养并给予 0-10 微升特定的药物刺激。
- 每孔加入 10 微升 MTT 溶液，在细胞培养箱内继续孵育 4 小时。

注意：对于高密度的细胞 (>100,000 cells/孔) 可缩短孵育时间至 2 小时。

产品说明书

3. 对于贴壁细胞，直接吸掉旧的培养液，避免枪尖刮破单细胞层。可将 96 孔板倾斜约 30-45 度。使用移液器（吸头尽量细长），贴着孔壁慢慢插入底部。极其缓慢地吸走培养液，不要把吸头直接怼到孔底中央。对于悬浮细胞，离心收集细胞，去除培养液。可将 96 孔板放入平板离心机，1000-2500rpm 离心 5-10 分钟。小心吸走上清液，同样建议贴着孔壁吸。
4. 每孔加入 100 μ L Formazan 溶解液。将 96 孔板放在脱色摇床或振荡器上，低速振荡 10-15 分钟。直到肉眼观察到紫色结晶完全消失，溶液变成均一的深紫色。
5. 在酶标仪 570nm 波长下测定吸光度（OD 值），记录结果，如果无 570 nm 滤光片，可以使用 560-600 nm 滤光片。

结果计算

细胞存活率=[(As-Ab)/(Ac-Ab)] \times 100%

抑制率=[(Ac-As)/(Ac-Ab)] \times 100%

As: 实验孔吸光度（含细胞、培养基、MTT 溶液和药物溶液）；

Ac: 对照孔吸光度（含细胞、培养基、MTT 溶液，不含药物）；

Ab: 空白孔吸光度（含培养基、MTT 溶液，不含细胞、药物）。

注意事项

1. 由于 MTT 分析基于活细胞中脱氢酶活性的检测，因此影响活细胞中脱氢酶活性的条件或化学物质可能会导致实际活细胞数与使用 MTT 分析确定的细胞数之间存在差异。
2. 由于使用 96 孔板进行检测，如果细胞培养时间较长，一定要注意蒸发的的问题。一方面，由于 96 孔板周围一圈最容易蒸发，可以采取弃用周围一圈的办法，改加 PBS，水或培养液；另一方面，可以把 96 孔板置于靠近培养箱内水源的地方，以缓解蒸发。
3. MTT 溶剂在低温情况下会凝固，使用前请室温放置或 20-25 $^{\circ}$ C 水浴温育片刻至全部融解后使用。
4. MTT 配制成溶液后为黄色，需避光保存，长时间光照会导致失效。当颜色变为灰绿色时，请勿使用。
5. 加入 Formazan 溶解液后请适当轻轻混匀，但须注意避免产生泡沫，因为它们会影响 OD 值读取。
6. 如果由于长期培养而改变了培养基的颜色或 pH，请在添加 MTT 时更换培养基；
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
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：

PMK0854 增强型 CCK-8 试剂盒

PMK0988 Annexin V-AbFluor™ 488 细胞凋亡检测试剂盒（绿色荧光）

PMK0997 一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒（绿色荧光）

PMK0992 EdU-488 法细胞增殖成像检测试剂盒

PMK0993 EdU-555 法细胞增殖成像检测试剂盒

更多产品详情了解，请关注公众号：

