

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

产品货号: AR1156

产品批号: 见外包装标签

产品规格: 500 次

MTT 染色液 5ml

Formazan 溶解液 55ml

产品保存: MTT 染色液-20℃避光保存; Formazan 溶解液室温保存, 一年有效。

产品说明:

1. MTT 细胞增殖及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 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。
2. 本试剂盒采用了独特的 Formazan 溶解液配方, 无需去除原有的培养液, 可以直接加入 Formazan 溶解液溶解 formazan。从而避免了由于去除培养液时 formazan 被部分去除而引起的误差。
3. 本试剂盒背景低, 灵敏度高, 线性范围宽, 使用方便提高了可靠性。
4. 本产品为 500 次 (5 个 96 孔细胞培养板) 操作。

注意事项:

1. 由于使用 96 孔板进行检测, 如果你的细胞要养 48 小时或更长, 建议不要吝惜 96-孔板的四周边孔, 这 32 个边孔不能使用, 建议加入灭菌 PBS 以饱和中间 64 个孔的水分。因为细胞培养过程中, 边孔的水分蒸发很快, 培养液及里面的药物会出现浓缩现象, 细胞的状况就复杂了。
2. MTT 溶剂在低温情况下会凝固, 使用前请室温放置或 20-25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
3. MTT 一般 4℃避光保存, 两周内有效, -20℃保存, 长期有效, 避免反复冻融, 最好小剂量分装, 用避光袋或是黑纸、锡箔纸包住避光以免分解, 当 MTT 变为灰绿色时就表明 MTT

已失效。

4. Formazan 溶解液结冻或产生沉淀时可以 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. 孵育时，须避光。
6. MTT 有致癌性，用的时候小心，最好带透明的薄膜手套，MTT 需要无菌，MTT 对菌很敏感。

使用方法：

1. 收集对数期细胞，调整细胞悬液浓度，每孔加入 100u1, 细胞增殖实验每孔加入 2000 个细胞，细胞毒性实验每孔加入 5000 个细胞（96 孔板，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）。加入浓度梯度的药物，原则上，细胞贴壁后即可加药，每孔 0-10u1，设 3-5 个复孔。
2. 5%CO₂，37℃ 孵育 16-48 小时，置显微镜下观察。
3. 每孔加入 10 微升 MTT 染色液，继续培养 4h。若药物与 MTT 能够反应，可先离心后弃去培养液，小心用 PBS 洗 2-3 遍后，再加入含 MTT 的培养液。
4. 每孔加入 100 微升 Formazan 溶解液，在细胞培养箱内再继续孵育。直至在普通光学显微镜下观察发现 formazan 全部溶解。通常 37℃ 孵育 4 小时左右，紫色结晶会全部溶解。如果紫色结晶较小较少，溶解的时间会短一些。如果紫色结晶较大较多，溶解的时间会长一些。（也可以每孔加入 100u1 的 DMSO，细胞培养箱孵育 10min 左右，紫色结晶基本全部溶解，加入 DMSO 之前需去除细胞培养液）。
5. 在酶联免疫检测仪 570nm 测定吸光度。如无 570nm 滤光片，可以使用 560-600nm 的滤光片。