上海源叶生物科技有限公司 Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd 电话: 021-61312973 传真: 021-55068248

网址: www.shyuanye.com 邮箱: shyysw@sina.com

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

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。

源叶生物 MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒采用了源叶生物自主研发 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。

组成:

编号	R20228	R20228	R20228	C4
名称	100T	500T	2500T	Storage
试剂(A): MTT Solution(5mg/ml)	1ml	5ml	25ml	-20℃ 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
- 3、细胞培养箱、摇床、显微镜、酶联免疫检测仪

操作步骤(仅供参考):



上海源叶生物科技有限公司

Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd

电话: 021-61312973 传真: 021-55068248

网址: www.shyuanye.com 邮箱: shyysw@sina.com

- 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。



上海源叶生物科技有限公司

Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd 电话: 021-61312973 传真: 021-55068248

网址: <u>www.shyuanye.com</u> 邮箱: shyysw@sina.com

6、培养细胞时尽量细菌避免污染,应注意设立 OD 调零孔和对照。

7、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。2~8℃运输,-20℃保存。

