MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-500T
MCK-0036	MTT	25mg
	MTT 溶剂	5 mL
	Formazan 溶解液	55 mL
	说明书	1 份

产品简介

MT 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。

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。本试剂盒本底低，灵敏度高，线性范围宽，使用方便。

细胞增殖检测分析是测定细胞周期调控因子，如：生长因子，细胞因子，促细胞分裂素及药物效果的直接方法之一。在细胞增殖过程中乳酸脱氢酶的活性会增加，而四唑盐 (如： MTT, XTT, WST-1 或 WST-8)在代谢活跃的细胞环境中会逐渐减少，形成能够改变培养基颜色的甲臜（Formazan）染料。MTT 细胞增殖检测试剂盒被广泛应用于由诱导剂和抑制剂引起的细胞增殖活性变化的体外检测。其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结晶甲瓒并沉积在细胞中，而死细胞无此功能。在特定溶剂存在的情况下，甲臜可以被完全溶解。

保存条件

4℃或-20℃保存，MTT 需避光保存，有效期 1 年。MTT 配制成溶液后需-20℃避光保存；Formazan 溶解液也可以室温保存。

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。
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 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。MTT 溶液在 4℃、冰浴等较低温度情况下会凝固，可以 20-25℃水浴温育片刻至全部融解后使用。
4. Formazan 溶解液结冻或产生沉淀时可以室温或 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. 加入 Formazan 溶解液后请适当轻轻混匀，但须注意避免产生泡沫。
6. 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。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. MTT 溶液的配制：用 5mL MTT 溶剂溶解 25mg MTT，配制成 5mg/mL 的 MTT 溶液。配制后即可使用，或直接-20℃避光保存，也可以根据需要适当分装后-20℃避光保存。
2. 通常细胞增殖实验每孔加入 100μL2000 个细胞，细胞毒性实验每孔加入 100μL5000 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 0-10μL 特定的药物刺激。
3. 每孔加入 10μL MTT 溶液，在细胞培养箱内继续孵育 4 小时。
4. 每孔加入 100μL Formazan 溶解液，适当混匀，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 3-4 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，此时为加速溶解可以适当振摇数次。
5. 在 570nm 测定吸光度。如无 570nm 滤光片，可以使用 560-600nm 的滤光片。