



## MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

### 产品简介:

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。

NOVON MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒采用了 NOVON 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:

名称	SS1132	保存条件
试剂(A): MTT solution(5mg/ml)	5ml	-20℃ 避光
试剂(B): Formazan solvent	60ml	RT
说明书	1 份	

### 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%CO<sub>2</sub> 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 0~20 μl 干预药物处理, 37℃ 5%CO<sub>2</sub> 继续培养至合适时间。
- 7、 弃培养液, 每孔加入 10 μl MTT solution 和 100 μl 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 110  $\mu$ l 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。