

MeiLun MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

产品编号: MA0198 规格: 500T 2500T

产品内容

产品组成	MA0198-500T (500 preps)	MA0198-2500T (2500 preps)
MTT 溶液 (5mg/ml)	5 ml	25 ml
Formazan 溶解液	55 ml	250 ml

产品简介

本试剂盒可应用于基于MTT检测方法的细胞增殖或细胞毒性检测。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瓚(Formazan)并沉积在细胞中,而死细胞无此功能。某些特定的试剂能溶解细胞中的formazan,用酶标仪在570nm波长处测定其光吸收值,在一定细胞数范围内,MTT结晶形成的量与细胞数成正比,吸光度越大,表示细胞活性越强,说明药物毒性越小。

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。

操作步骤

1. 在96孔板加入100微升/孔的细胞,通常细胞增殖实验每孔2000个细胞,细胞毒性实验每孔5000~10000个细胞(具体每孔所用的细胞数目,需根据细胞的大小和细胞增殖速度的快慢等决定)。置37°C、5%CO₂细胞培养箱使细胞贴壁,培养6~24小时。
2. 按照实验需要,给予0~10微升适当浓度的受试化合物,继续培养适当时间。
3. 每孔加入10微升MTT溶液,在细胞培养箱内继续孵育4小时。
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°C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，也可过夜孵育。)

5. 用酶标仪在570nm波长处测定吸光度。(如无570nm滤光片，可以使用560-600nm的滤光片。)
6. 同时设置调零孔(培养基、MTT、Formazan溶解液)，对照孔(细胞、相同浓度的药物溶解介质、培养液、MTT、Formazan溶解液)，每组设定3复孔。

保存方法

1. MTT溶液-20℃避光保存，避免反复冻融，1年有效。Formazan溶解液室温或4℃保存。
2. MTT溶液为黄色，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。
3. MTT溶液在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. 温度较低时，Formazan溶解液可能产生沉淀，使用前在37℃水浴中加热，并在完全溶解后混匀使用。

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. 若所用受试化合物与MTT能够反应，可先离心后弃去培养液，小心用PBS冲2~3遍后，再加入含MTT的培养液。

3. Formazan的生成不仅与活细胞数成正比，也受作用时间的影响，因此样品较多时测定的结果可能随时间而变。

4. 本品含有致癌物质，避免与皮肤和眼睛接触，请小心操作。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。