

MTT 溶液(5mg/ml)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

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 检测原理在于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 (如 DMSO)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。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
MTT 溶液(5mg/ml)	10ml/5ml	RT	1 份	1 年
MTT solution(5mg/ml)	10ml	-20℃ 避光	1 份	1 年

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、DMSO 或 Formazan solvent
- 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 /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 个细胞即可。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 0~20 μl 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 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 μl DMSO，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(5mg/ml)尽量减少反复冻融的次数，以免失效，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，使用前请置于室温或 20~25℃ 水浴至全部融解后用。
- 4、观察 formazan 是否完全溶解，亦可以借助光学显微镜观察。
- 5、培养细胞时尽量细菌避免污染。
- 6、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。

相关产品:

MTT 溶液(5mg_ml)
MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
PIPES 缓冲液(10mmol_L, pH6.8)
PIPES 溶液(1mol_L, pH7.0)
PIPES 溶液(1mol_L, pH8.0)
PIPES 溶液(1mol_L, pH9.0)

