

MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit

Cat. No: GCQ0054

Size: 500 Assays/1000 Assays

产品编号	产品名称	500 Assays	1000 Assays	Storage
E-CK-A341A	MTT (5×)	5 mL×1	10 mL×1	2~8°C, shading light
E-CK-A341B	MTT Diluent Buffer	12.5 mL×2	12.5 mL×4	2~8°C
E-CK-A341C	Formazan Dissolution Buffer	50 mL	50 mL×2	2~8°C, shading light
	说明书		一份	

保存条件

2~8°C保存一年，MTT (5×)需避光保存。

检测原理

Elabscience®的MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit可广泛应用于细胞增殖和细胞毒性检测。

MTT是噻唑蓝(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide), 可被线粒体内的一些脱氢酶还原生成结晶状的深紫色产物甲臞(Formazan)。甲臞可被Formazan Dissolution Buffer完全溶解，并通过酶标仪测定 570 nm波长附近的吸光度。细胞增殖速度越快，则吸光度越高；细胞毒性越大，则细胞增殖减慢从而导致吸光度降低。

实验操作指南

方法一：针对悬浮细胞和贴壁细胞

1. 准备工作

本试剂盒中MTT (5×)为浓缩液，实验前稀释成1×工作液。例如：取100 µL MTT (5×)，加入400 µL MTT Diluent Buffer，混匀后即成为1× MTT工作液。

注：建议现配现用，配置后的1×MTT工作液注意避光保存。

2. 取生长状态良好的细胞，调整细胞密度，按每孔 100 µL 细胞悬液接种于 96 孔板中，同时设空白孔（不加细胞但是加入同体积的培养基）。

注：通常细胞增殖实验每孔加入100 µL约含2000个细胞，细胞毒性实验每孔加入100 µL约含5000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）。

3. 根据实验设计对细胞进行培养和处理。

4. 每孔加入 50 µL 的 1× MTT 工作液。继续孵育 4 h，使 MTT 还原为甲臞。

注：MTT孵育条件与细胞培养条件相同。

5. 提前取出 Formazan Dissolution Buffer，复温至室温，每孔加入 100µL Formazan Dissolution Buffer，继续孵育 1~4 h，使甲臞充分溶解（为促进甲臞溶解，可在 37°C孵育摇床中摇转孵育）。

6. 镜下观察，甲臞充分溶解后用酶标仪测定在 570 nm 处的吸光度。

For Research Use Only

7. 结果计算:

$$\text{细胞存活率(\%)} = \frac{OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

[注]:

OD_{sample}: 实验孔的OD值OD_{control}: 对照孔的OD值OD_{blank}: 空白孔的OD值

方法二：限贴壁细胞

1. 准备工作

本试剂盒中MTT (5×)为浓缩液,实验前稀释成1×工作液。例如:取100 μL MTT (5×),加入400 μL MTT Diluent Buffer,混匀后即成为1×MTT工作液。

注:建议现配现用,配置后的1×MTT工作液注意避光保存。

2. 取生长状态良好的细胞,调整细胞密度,按每孔 100 μL 细胞悬液接种于 96 孔板中,同时设空白孔(不加细胞但是加入同体积的培养基)。

注:通常细胞增殖实验每孔加入100 μL约含2000个细胞,细胞毒性实验每孔加入100 μL约含5000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)。

3. 根据实验设计对细胞进行培养和处理。

4. 每孔加入 50 μL 的 1×MTT 工作液。继续孵育 4 h,使 MTT 还原为甲臞。

注:MTT孵育条件与细胞培养条件相同。

5. 小心吸出上清液,每孔加入 150 μL 的 DMSO (自备)使甲臞溶解,用平板摇床摇匀。

注:吸出上清时可先离心,避免吸出漂浮的细胞及甲臞试剂,充分摇匀1~4小时,使甲臞充分溶解后再检测。

6. 用酶标仪测定在 570 nm 处的吸光度。

7. 结果计算:

$$\text{细胞存活率(\%)} = \frac{OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{OD_{\text{control}} - OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100\%$$

[注]:

OD_{sample}: 实验孔的OD值OD_{control}: 对照孔的OD值OD_{blank}: 空白孔的OD值

注意事项

1. 本产品仅供科研使用。
2. 为了您的安全与健康，请穿戴实验室工作服和一次性手套进行操作，并遵守实验室试剂操作规程。
3. 保质期 1 年。为获得最佳的使用效果，请在 6 个月内使用。
4. 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。
5. 细胞接种时注意混匀，避免细胞沉降导致每孔中细胞接种数量不一致。
6. MTT 的孵育时间一般为 1~4 小时，建议预实验摸索最佳细胞接种数量和 MTT 孵育时间。
7. 使用 96 孔板进行细胞培养时，需注意水分蒸发而带来的结果误差，建议弃用外围一圈的孔，改加同体积的 PBS、水或细胞培养液，另外，也可将 96 孔板置于培养箱中靠近水源的地方，以减缓水分蒸发。
8. 酶标仪检测 OD 时，确保每一个孔内都没有气泡，否则会干扰测定。
9. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化反应，所以还原剂（抗氧化剂）会干扰检测，如果待检测系统中存在还原剂，需设法除去。或者在加入 MTT 之前更换新鲜培养基，去掉待测药物的影响。