

G020-1 MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒

一、包装规格

试剂编号	试剂名称	500T 规格	1000T 规格	储存条件
试剂一	5×MTT	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	4℃避光
试剂二	稀释液	25mL×1 瓶	50mL×1 瓶	4℃

二、产品描述

MTT 四唑蓝是一种能接受氢原子的染料，可直接加入到细胞培养基中，被活细胞的线粒体琥珀酸脱氢酶还原为水不溶性的深紫色结晶状产物 formazan，但死细胞不能进行此还原反应。用特定溶剂可溶解 MTT 所产生的水不溶性紫色结晶，然后用酶标仪在 570 nm 波长附近（500~600nm）处测定光吸收值，可反映活细胞的数量和代谢活力，并由此反映细胞的存活、增殖、生长和毒性。例如加入细胞生长因子后，增殖生长旺盛的细胞将还原更多的 MTT，并具有较高的光吸收度；反之，抗增殖抗肿瘤或细胞毒药物处理后细胞生长越慢或毒性越大，则光吸收度越低。也用于检测非药物刺激如物理因素对细胞增殖和活力的影响。与 3H-胸腺嘧啶掺入方法相比，简便快速可靠，不使用放射性同位素，广泛用于检测细胞存活、增殖、生长、毒性实验。

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

低速离心机、平板摇床、酶标仪（570nm波长）、微量移液器、96孔板、1.5m L离心管、DMSO

四、保存条件：

4℃保存，MTT需避光保存，半年有效

五、注意事项：

- 1、悬浮细胞用此法时必须经离心后才能吸出上清再加DMSO。
- 2、Formazan的生成不仅与活细胞数成比例，也受作用时间的影响，因此当样品较多时测定的OD值可能随时间而变。
- 3、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。MTT溶液在4℃或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、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

六、操作规程

- 1、在96孔板加入细胞100μL/孔，通常细胞增殖实验每孔加入100微升2000个细胞，细胞毒性实验每孔加入100微升5000~10000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）。置37℃ 5%CO₂细胞培养箱培养24小时
- 2、加入适当浓度的0~10μL受试化合物。
- 3、将96孔板在37℃，含5% CO₂空气及100%湿度的细胞培养箱中孵育适当时间。
- 4、将5×MTT用稀释液稀释成1×MTT溶液。
- 5、每孔加50μL 1× MTT溶液，在37℃孵育4小时，使MTT还原为甲贍。
- 6、吸出上清液，每孔加150μL DMSO使甲贍溶解，用平板摇床摇匀。
- 7、酶标仪在570nm波长处检测每孔的光密度（如无570nm滤光片，可以使用560-600nm的滤光片）。
- 8、结果分析
 - A、细胞的存活率：将各测试孔的OD值减去本底OD值（完全培养基加MTT，无细胞）或空白药物孔OD值（完全培养基加受试药物的不同稀释度加MTT，无细胞），各重复孔的OD值取平均数±SD。
 - B、细胞的存活率以T/C%表示，T为加药细胞的OD值，C为对照细胞的OD值。
$$\text{细胞存活率}\% = (\text{加药细胞OD}/\text{对照细胞OD}) \times 100$$
求出T/C = 50% 时的药物浓度(IC₅₀)及T/C = 10%时的药物浓度(IC₉₀)