



## MTT 检测试剂盒

### MTT Assay Kit

#### 产品信息

| 产品货号    | 产品名称                       | 产品组分               | 产品规格  | 储存  |
|---------|----------------------------|--------------------|-------|-----|
| JY02022 | MTT 检测试剂盒<br>MTT Assay Kit | MTT 粉末 25 mg       | 500 T | 4°C |
|         |                            | MTT 溶剂 5 mL        |       |     |
|         |                            | 甲臞溶解液 (DMSO) 55 mL |       |     |

#### 产品简介

MTT 全称为 3-(4,5-Dimethyl-2-Thiazolyl)-2,5-Diphenyl Tetrazolium Bromide, (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide), 中文名简称: 噻唑蓝。CAS 号 298-93-1, 分子式为  $C_{18}H_{16}BrN_5S$ , 分子量为 414.32。

MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒 (MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit) 是一种非常经典的细胞增殖和细胞毒性检测试剂盒, 被广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的检测。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臞 (Formazan) 并沉积在细胞中, 而死细胞无此功能。二甲基亚砜 (DMSO) 或特定的甲臞溶解液能溶解细胞中的甲臞, 用酶标仪在 570 nm 波长处测定其光吸收值, 可间接反映活细胞数量。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。该方法已广泛用于一些生物活性因子的活性检测、大规模的抗肿瘤药物筛选、细胞毒性试验以及肿瘤放射敏感性测定等。本试剂盒本底低, 灵敏度高, 线性范围宽, 使用方便。

本公司提供两种 MTT 检测试剂盒: **JY02021 MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒** 和 **JY02022 MTT 检测试剂盒**。传统 MTT 检测方法中, 由于产生的甲臞是不溶于水的, 需要先将上层反应液移除, 再加入 DMSO 溶解甲臞, 此步操作容易吸走甲臞造成实验误差, 且增加了悬浮细胞实验的困难。“JY02021 MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒”采用了独特的甲臞溶解液配方, 无需去除原有的培养液, 可以直接加入甲臞溶解液溶解甲臞, 从而避免了由于去除培养液时甲臞被部分去除而引起的误差, 且悬浮细胞更适用。而“JY02022 MTT 检测试剂盒”保留了 DMSO 溶解甲臞的策略, 但显著缩短了甲臞溶解时间, 从原来的数小时缩短为数分钟, 节约了实验时间。

本公司还提供更优的 **CCK-8 试剂盒 (JY02031)**, 适用于贴壁和悬浮细胞的增殖和毒性检测。

#### 保存条件

冰袋运输; 未开封时 4°C 保存, 1 年有效。开封后, 将 MTT 粉末配制成 MTT 溶液, 需 -20°C 避光保存; 甲臞溶解液于 37°C 溶解后室温保存即可。

#### 注意事项

1. 使用 96 孔板进行检测, 若细胞培养时间较长, 需注意孔板外圈培养液蒸发。可以弃用外圈板孔, 改加 PBS, 水或培养液并将孔板置于靠近培养箱内水源的地方, 以缓解培养液蒸发。
2. MTT 配制成溶液后为黄色, 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. 甲臞溶解液低温保存时会凝固, 只需 37°C 复溶后不影响使用。
4. 加入甲臞溶解液后请适当轻轻混匀, 但须注意避免产生泡沫。
5. 本产品仅用于科学研究, 不得用于临床诊断和治疗, 不得用于食品和药品, 不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明



#### A. MTT 溶液的配制:

用 5 mL MTT 溶剂溶解 25 mg MTT, 配制成 5 mg/mL 的 MTT 溶液。配制后即可使用, 或直接-20°C 避光保存, 也可以根据需要进行适当分装后-20°C 避光保存。

#### B. MTT 检测 (以 96 孔为例):

1. 收集对数期细胞, 调整细胞悬液浓度, 铺于 96 孔板。贴壁细胞 1000-10000/孔, 悬浮细胞 10000-100000/孔 (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)。按照实验需要, 进行培养并给予药物处理 (含有药物的培养基也为 100  $\mu$ L)。

注: ● 96 孔板四周的 32 个边孔不要使用, 建议加入灭菌 PBS 补齐。因边孔水分蒸发快, 培养液会出现浓缩现象, 细胞状态处理条件等都不再准确, 通常将其称为“边缘效应”。

● 实验时应设置调零孔, 对照孔和加药孔。调零孔加培养基、MTT、二甲基亚砜 (无细胞的空白对照)。对照孔和加药孔都要加细胞、培养液、MTT、二甲基亚砜, 不同的是对照孔加溶解药物的介质, 而加药组加入不同浓度的药物。每组设 3-6 个副孔。

2. 可选: 若因培养时间较长, 培养液蒸发导致每孔液面差异较大, 需更换新鲜培养基。短期无需此步。对于贴壁细胞, 去除旧的培养液, 更换 100  $\mu$ L/孔新鲜的培养液; 对于悬浮细胞, 离心 96 孔板, 去除尽可能多的上清液, 然后加入 100  $\mu$ L/孔新鲜的培养液重悬细胞。
3. 每孔加入 10  $\mu$ L MTT 溶液, 适当混匀, 在细胞培养箱内继续孵育 4 h。
4. 吸弃上清 (对于贴壁细胞, 直接吸掉旧的培养液, 避免枪尖刮破单细胞层; 对于悬浮细胞, 离心收集细胞, 去除培养液), 避免吸走底部紫色结晶。每孔加入 100  $\mu$ L 甲臞溶解液, 置摇床上低速振荡 10-15 min, 使紫色结晶物充分溶解。
5. 在 570nm 测定吸光度。如无 570nm 滤光片, 可以使用 560-600nm 的滤光片。

## 相关产品

| 产品编号    | 产品名称      | 产品规格  |
|---------|-----------|-------|
| JY02021 | MTT 检测试剂盒 | 500 T |