

## MTT 溶液 (5mg/ml)

### 简介:

MTT 全称为 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, 汉语化学名为 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐, 是一种黄颜色的染料。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结晶甲瓚(Formazan)并沉积在细胞中, 而死细胞无此功能。在特定溶剂(如 DMSO)存在的条件下, 可以被完全溶解。然后通过酶标仪可以测定 570 nm 波长附近的吸光度。通过 OD 值的大小, 可以判断活细胞的数量或活性, 在一定细胞数范围内, MTT 结晶形成的量与活细胞的数量或活性成正比。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。

### 组成:

产品名称	CD003-10ml	Storage
MTT solution(5mg/ml)	10ml	-20 °C 避光
说明书	一份	

### 保存条件:

-20 °C 避光保存, 18 个月有效期。

### 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°C 5% CO<sub>2</sub> 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 ~ 20ul 干预药物处理, 37°C 5% CO<sub>2</sub> 继续培养至合适时间。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



- 7、弃培养液，每孔加入 10ul MTT solution 和 100ul 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 110ul DMSO，置摇床上低速振荡 10min，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 570 nm 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 °C 水浴至全部融解后使用。
- 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。

