



细胞活性检测试剂盒（MTT法） 500T

一般说明

有关细胞增殖和细胞活性的研究需要准确定量测定细胞培养液中的活体细胞数量。因此，计算细胞活性的检测法对于优化细胞培养条件、评价细胞生长因子和营养成分、研发新型抗生素和抗癌药物、评价环境污染物的毒性作用和细胞介导的毒性以及研究程序性细胞死亡（细胞凋亡）都是必不可少的。本公司生产的细胞活性试剂盒为测定培养液中的活体细胞数量提供了一种方便、敏感、量化且可靠的检测方法。该匀相比色检测法是基于一种淡黄色底物四唑盐MTT可转化生成甲臞，甲臞是一种紫色显色剂。吡啶核苷酸辅因子NADH/NADPH参与了该细胞还原反应，并且只有活体细胞才能催化这种反应。反应产物甲臞为低水溶性的紫色晶状体，用增溶缓冲液来溶解甲臞可方便地定量测定产物的组成。在550 - 620 nm下测得的产物吸光强度直接与培养液中的活体细胞数量成正比。为了提高检测的敏感性、稳健性和自动化程度，试剂盒中的试剂配比恰当且进行了优化处理。可准确定量低至950个细胞。

应用

细胞增殖：细胞因子、生长因子和营养成分对活体细胞数量的影响。

细胞毒性和细胞凋亡：评价有毒化合物、抗癌抗体、毒素和环境污染物等。

药物鉴定：高通量筛选毒性药物和抗癌药物。

试剂盒规格

MTT 试剂	缓冲液	增溶剂
固体	10 mL	50 mL

对照试剂：50 mg皂素（需单独订购）

储存：反应试剂在-20℃下保存。缓冲液和增溶剂分别在4℃和常温保存。

检测步骤：

本检测是基于具有代谢活性的细胞能将MTT转化为紫色甲臞的原理。对大多数细胞而言，完成这种还原反应需要3至5小时。将反应产物甲臞进行增溶处理，然后用吸光度分析仪定量测定所产生的有色溶液。酚红不会干扰检测结果。技术要点中的所有数据都是在含有酚红的培养基中测得的。

1. 在透明平底 96 孔组织培养板中培养细胞（每孔 80 μ L）。

典型的培养基含DMEM、10%胎牛血清和抗生素（青霉素/链霉素，庆大霉素等）、氨基酸和其它营养物质。不论是粘附细胞还是悬浮细胞，都可进行检测。每孔的细胞数量可从1,000至80,000之间不等。尽管本方案中使用80 μ L，但培养体积可从50至150 μ L之间不等。除待测样品外，还应设定对照孔，对照孔的培养基应不含细胞或细胞已经过有毒试剂（如0.1%皂素）处理过。

2. 加入待测化合物和对照品，培养细胞至所需的时间（通常一整夜）。建议一式两份或一式三份进行检测。对于测试化合物和对照，建议在磷酸盐缓冲盐水（PBS）或培养基中的体积为20 μ L。对照试剂用5mLPBS（0.1%皂素）溶液配制。

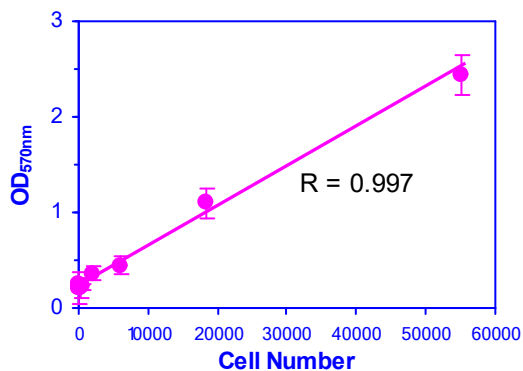
3. 用缓冲液配制MTT试剂。首先将试剂和缓冲液放置至室温，然后用吸液器移取少量（如1 mL）缓冲液至装有MTT试剂的试管中，以混合缓冲液和试剂。轻轻振荡试管，将配制好的溶液移至装有缓冲液的瓶内。重复以上步骤直至将所有试剂都移至装有缓冲液的瓶内。翻转试剂瓶使其混合，直到试剂完全溶解。完成上述步骤后，将试剂瓶标注为已配试剂。注：虽然配好的试剂可在-20℃下保存4周，但仍建议现配现用。



4. 将15 μL MTT试剂（每80 μL 细胞培养液）加入到各孔中，在37°C下培养4小时。应根据细胞培养液的体积调整所加试剂的体积。
5. 加入100 μL 增溶剂。置于轨道式振荡器中，在室温下轻轻振荡混合1小时。应根据细胞培养液的体积调整所加增溶剂的体积。如果增溶剂中出现沉淀，需将容器置于温水浴中或37°C下，振荡以溶解沉淀物。
6. 用吸光度分析仪测量每孔的OD_{570nm}。必要时，可在第二天测量OD值。在这种情况下，建议密封孔板以尽可能地减少蒸发。

数据分析

确定空白对照的平均值，然后从所有吸光度值中减去该量。绘制相对于测试化合物浓度在570nm处的校正吸光度值。通过使用任何数据分析工具的非线性回归分析，确定细胞增殖的EC₅₀值和细胞毒性化合物的IC₅₀值。



预防措施： 本产品仅供研究用，使用过程中应严格遵循实验安全措施。

