**细胞增殖检测试剂盒（MTS）说明书**

**产品简介：**

 MTS是一个基于光吸收检测的均相非标记细胞活力测定试剂。一步操作，可用于细胞增殖和毒性分析，方法简便而准确。该试剂可被活细胞还原为具有高度水溶性的，可在490nm处检测的甲臜染料，甲臜的生成量与活细胞的数量和活力成正比。

**试剂的优点**

1. **结果准确，重现性好:**试剂不影响细胞活力，显色产物直接溶解于培养液，直接测定OD值即可准确反应细胞活力。
2. **操作省时简单:**试剂即开即用，只需一步操作，即可检测。无需额外清洗，加DMSO等步骤，重现性好。
3. **安全性好:**不含放射性同位素和有机溶剂，使用安全。
4. **灵敏度高:**灵敏度高于MTT、XTT、CCK-8等方法。

**使用方法:**

\*以下操作步骤针对96孔培养板培养每孔100μl细胞，若使用96孔外的培养板，试剂用量等比例增减。

1. 取出MTS试剂于室温或37℃溶解。
2. 于培养有100μl细胞/孔的96孔培养板中加入10μl MTS试剂。
3. 将96孔培养板放回培养箱，37℃孵育1～4小时。

\*如孵育后需立即检测，请跳至步骤4；如稍后检测，每孔加入25μl的20% SDS溶液，避光保存，18小时内检测。

1. 用酶标仪于490nm处测定OD值。

**结果分析** 将各测试孔的OD值减去对照孔或调零孔OD值。各平行孔的OD值取平均数。

$$细胞活力\%=\frac{加药细胞组OD-空白组OD}{对照细胞组OD-空白组OD} ×100\%$$

**注意事项：**

1. 试剂加入后轻轻振摇培养板，使MTS试剂与培养基充分混匀。
2. 试剂加入后培养时间根据细胞种类的不同和每孔细胞数量的多少而异。对于贴壁细胞，加入MTS的培养时间一般为1～4小时，但在培养30分钟左右即可取出肉眼观察显色程度（根据细胞种类而定）。与贴壁细胞相比，悬浮细胞较难显色。对于悬浮细胞，在加入MTS培养1～4小时后，可先从培养箱中取出，目测染色程度或用酶标仪测定决定。白细胞较难显色，因此需要较长的MTS反应时间或增加细胞数量（105个细胞/孔）。若显色困难，可以将培养板放回培养箱，继续培养数小时后再确定。注意：MTS的最佳反应时间以具体显色的最佳时间为准。
3. MTS试剂中的试剂会与还原剂反应生成甲臜，如果实验中有还原剂，需要检查背景的OD值，即在不含细胞的培养基中加入药物，然后加入MTS试剂在一定时间内检测，和不加药物的培养基进行比较（只加MTS试剂），如果OD值明显偏高，则说明有反应。
4. 如果样品为高浑浊度的细胞悬液，建议设定630nm～700nm作为参比波长，扣除参比波长的OD值即可。
5. 如果要测定细胞的具体数量，需要先做一个标准曲线。
6. 若测得OD值过高，可酌减铺板细胞数或MTS试剂用量。

**试剂包装:**

100次：1ml×1瓶；500次：5ml×l瓶；3,000次：5ml×6瓶；5,000次：5ml×10瓶；10,000次：100ml×l瓶。

**贮藏条件:**

MTS在避光0～5℃的条件下存放一年，测定效果完全不变。在-20℃的条件下可以贮存更久。反复冻融会增加背景值，经常使用时请于0～5℃条件下保存。

 **本试剂仅供科研使用。**