

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	10ml	4℃避光
试剂二	稀释液	25ml	50ml	4℃

二、产品描述

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 是噻唑蓝 (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide), 可以被线粒体内的一些脱氢酶还原生成结晶状的深紫色产物甲臜 (formazan)。formazan 可以被 DMSO 完全溶解, 然后通过酶标仪测定 570nm 波长附近的吸光度。细胞增殖速度越快, 则吸光度越高; 细胞毒性越大, 则细胞增殖减慢从而导致吸光度降低。

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、1.5mL 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 100 μL/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 0~10 μL 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 50 μL 1× MTT 溶液, 在 37℃ 孵育 4 小时, 使 MTT 还原为甲臜。
- 6、吸出上清液, 每孔加 150 μL DMSO 使甲臜溶解, 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)