

# CytoDet 细胞活力检测试剂盒 (MTT)

CytoDet Cell Viability Assay Kit (MTT)

Code No. AG51004

**包装量:** 100 rxns  
**保存温度:** -20°C

## 产品概述

本产品是一种基于 MTT [3-(4,5-二甲基-2-噻唑基)-2,5-二苯基四氮唑溴盐] 的广泛应用于细胞增殖和细胞毒性的高灵敏度检测试剂盒。其检测原理是 MTT 能被活细胞内产生的还原性脱氢酶还原成蓝紫色的不溶性甲臜产物, 可使用酶标仪在 570 nm 波长处进行吸光度检测, 细胞活力越强甲臜生成的越多, 颜色越深, 一定范围内, 吸光度与细胞活力成正比, 因此可通过 MTT 进行细胞增殖和毒性分析。

## 保存及运输

保存温度: -20°C 避光保存  
运输温度: -20°C 冰袋运输

## 产品组成

MTT Reagent*1	1 ml
MTT Solvent Solution*2	10 ml

\*1: MTT Reagent 需置于 -20°C 保存, 并尽量避免反复冻融, 可按照所需用量进行分装保存。

\*2: MTT Solvent Solution 可能会生成沉淀, 可放置于 37°C 水浴加热使沉淀完全溶解, 充分混匀后即可使用; 溶解后的溶液可置于 4°C 或室温保存 6 个月。

## 实验操作(以 96 孔细胞培养板为例)

以下操作以 96 孔细胞培养板为例, 若使用其他孔板进行实验, MTT Reagent 添加量按照培养基添加量的 10%, MTT Solvent Solution 添加量按照培养基添加量的 100% 即可。

(**注意:** 若直接进行检测, 则需要确认使用的此 96 孔细胞培养板是否能够用于吸光度检测, 若不能进行检测, 则需要转移至可检测的板中)。

### A. 标准曲线制作 (可选)

- 按照一定的梯度将细胞接种于 96 孔细胞培养板中 (如每孔 100  $\mu$ l 培养液中分别含 0, 2000, 4000, 8000, 16000, 32000, 64000, 100000 个细胞), 一般设置 5~8 个细胞数量梯度, 每组做 3~6 个重复。
- 每孔加入 10  $\mu$ l 的 MTT Reagent, 混匀, 37°C 孵育 3 h (若检测值偏低, 可延长孵育时间至 4 h; 若检测值偏高, 可尝试缩短孵育时间至 2 h)。
- 将培养板取出后加入 100  $\mu$ l 的 MTT Solvent Solution, 混匀, 在 37°C 孵育 4 h~过夜 (也可以尝试在混匀后 1~3 h 内检测, 若在此时间段内细胞数量与吸光度无法呈现良好的线性关系或检测值偏低, 可适当延长孵育时间)。
- 酶标仪测定 570 nm 处的吸光度。以细胞数量为横坐标, 吸光度为纵坐标制作标准曲线, 若细胞数量与吸光度呈现良好的线性关系, 则可根据此标准曲线条件测定未知样品的细胞活力 (检测前需要确保孔内溶液混匀, 且孔内无气泡)。



## B. 细胞培养

1. 在 96 孔细胞培养板中接种一定数量的细胞（可根据标准曲线，选择呈现线性关系范围内的细胞数量，如细胞增殖实验可尝试每孔接种 2000 个细胞，细胞毒性实验可尝试每孔接种 5000 个细胞），放置在细胞培养箱（37°C，5% CO<sub>2</sub>）中培养 24 h，同时设置对照组及空白组（对照组与空白组可参照 **D.结果分析** 进行设置）。
2. 加入适当浓度的药物对细胞进行处理（若无药物处理，直接进行步骤 **C.细胞活力检测**）。
3. 将 96 孔细胞培养板放置在细胞培养箱（37°C，5% CO<sub>2</sub>）中孵育适当时间。

## C. 细胞活力检测

1. 向各孔中加入 10 μl 的 MTT Reagent，混匀，37°C 孵育 3 h（若检测值偏低，可延长孵育时间至 4 h；若检测值偏高，可尝试缩短孵育时间至 2 h）。
2. 向各孔中加入 100 μl 的 MTT Solvent Solution，混匀后在 37°C 孵育 4 h~过夜（12~16 h）（若检测值偏高，可以尝试缩短时间，在 1~3 h 内检测；若检测值偏低，可过夜孵育）。
3. 用酶标仪在 570 nm 处检测吸光度（检测前需要确保孔内溶液混匀，且孔内无气泡）。

## D. 结果分析

### 细胞活力计算：

$$\text{细胞活力 (\%)} = (A - C) / (B - C) \times 100$$

$$\text{抑制率 (\%)} = (B - A) / (B - C) \times 100$$

**A 为实验组吸光度：**实验组含有特定药物处理的细胞、培养基、MTT Reagent 和 MTT Solvent Solution。

**B 为对照组吸光度：**对照组含有不加药物处理的细胞、培养基、MTT Reagent 和 MTT Solvent Solution。

**C 为空白组吸光度：**空白组不含细胞，含有培养基、MTT Reagent 和 MTT Solvent Solution。

详细信息请查阅 [www.agbio.com.cn](http://www.agbio.com.cn)

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.