

MTT 溶液 (5mg/mL)

产品说明书

一、产品描述

MTT 溶液 (5mg/mL) 是一种用于细胞增殖、细胞活性和药物细胞毒性检测的液体试剂。MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, 噻唑蓝四氮唑溴盐) 可被代谢活跃细胞内的脱氢酶还原, 形成紫色不溶性甲臞结晶。

在一定细胞数量和反应时间范围内, 甲臞生成量与活细胞数量及细胞代谢活性具有相关性。经 DMSO 或其他适宜溶解液充分溶解后, 可通过酶标仪检测吸光度, 用于比较不同处理条件下细胞增殖或活性变化。

本产品为 5 mg/mL 即用型 MTT 溶液, 可用于贴壁细胞和部分悬浮细胞的常规 MTT 检测。不同细胞类型、接种密度、培养基成分、药物处理方式和孵育时间均可能影响检测结果, 建议在正式实验前进行线性范围、接种密度和孵育时间预实验。

MTT 检测反映的是细胞代谢还原能力变化, 并不等同于绝对细胞数量变化。对于明显影响线粒体代谢、还原体系或培养基颜色背景的处理条件, 建议结合空白孔、未处理对照孔、溶剂对照孔及其他检测方法进行综合判断。

二、产品信息

目录号	产品名称	规格
SP00955-0005	MTT 溶液 (5mg/mL)	5 mL
SP00955-0010	MTT 溶液 (5mg/mL)	10 mL

三、试剂指南

冰袋运输; 到货后应于 -20℃ 避光保存, 避免反复冻融。有效期为 18 个月。本产品经无菌处理, 使用前请在避光条件下解冻并轻轻颠倒混匀, 避免剧烈振荡或长时间暴露于强光环境。



如需多次使用，建议首次解冻后在无菌条件下按单次用量分装，并置于 -20℃ 避光保存。短期使用时可置于 2 ~ 8℃ 避光保存，但不建议长期反复开盖取用。若产品出现明显沉淀、絮状物、颜色异常、瓶体破损或疑似污染，不建议继续使用。

四、操作流程

（一）使用前准备

1. 根据实验目的设计空白孔、阴性对照孔、溶剂对照孔、阳性对照孔和实验处理孔，每个条件建议设置 3 ~ 6 个复孔。
2. 使用前将 MTT 溶液在避光条件下解冻并充分混匀；若低温保存后出现轻微析出，应待完全溶解并混匀后使用。
3. 准备 DMSO 或经实验体系验证适用的甲臞溶解液，并提前设置酶标仪检测波长，常用主波长为 490 nm 或 570 nm，参考波长可根据仪器和实验体系设置。
4. MTT 反应对细胞接种密度和孵育时间较敏感，建议在正式检测前确认吸光度读数处于线性范围。

（二）贴壁细胞检测流程（96 孔板示例）

1. 将处于对数生长期的细胞制备为均一细胞悬液，按实验设计接种于 96 孔板中，置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养至适宜状态。
2. 按实验方案进行药物处理、刺激处理或其他实验处理，并设置相应对照孔。
3. 每孔含 100 μL 培养液时，加入 10 μL MTT 溶液 (5mg/mL)，使 MTT 终浓度约为 0.5 mg/mL；其他培养体积可按比例调整加入量。
4. 轻轻拍打培养板边缘使试剂混匀，避光置于 37℃ 培养箱中孵育 2 ~ 4 h。具体孵育时间应根据细胞类型、细胞密度和显色情况优化。
5. 显微镜下观察可见紫色甲臞结晶形成后，小心吸弃孔内上清，避免触碰和吸走结晶。
6. 每孔加入 100 ~ 150 μL DMSO 或适宜甲臞溶解液，室温避光振荡 10 min 左右，使结晶充分溶解。
7. 确认孔内无明显未溶结晶或气泡后，使用酶标仪检测吸光度。读数前可轻轻震荡混匀，以降低孔间差异。



（三）悬浮细胞检测流程

1. 将悬浮细胞调整至适宜密度后接种于 96 孔板中，并按实验方案进行处理。
2. 按每 100 μ L 细胞悬液加入 10 μ L MTT 溶液的比例加入试剂，避光置于 37°C 培养箱中孵育 2 ~ 4 h。
3. 孵育结束后，可根据细胞沉降情况以 300 ~ 500 $\times$ g 离心 5 min，使细胞和甲臞结晶沉降于孔底。
4. 小心吸弃上清后加入 DMSO 或适宜甲臞溶解液，充分振荡溶解后读取吸光度。若孔内仍可见未溶结晶，应延长振荡时间或优化溶解条件。

（四）结果计算与判读

1. 扣除空白孔背景后进行数据分析。常用计算方式为：相对细胞活率(%) = (实验孔 OD - 空白孔 OD) / (对照孔 OD - 空白孔 OD) $\times$ 100%。
2. 若样品本身具有颜色、浊度或还原性，需设置样品背景孔，以排除样品对吸光度或 MTT 还原反应的干扰。
3. 当对照孔 OD 值过高或过低时，提示细胞接种密度或孵育时间可能不在合适线性范围内，应重新优化实验条件。

五、附加说明

注意事项

1. 本产品仅供实验室研究使用，不用于临床诊断、治疗或人体/动物给药。
2. MTT 对光较敏感，取用、孵育和保存过程中应尽量避光操作。
3. MTT 及甲臞溶解液可能具有刺激性，操作时应佩戴实验服、一次性手套和护目镜，避免直接接触皮肤、眼睛和黏膜。
4. 加入 MTT 后不宜长时间过度孵育，以免结晶过多、细胞状态改变或背景升高，影响读数准确性。
5. 不同细胞对 MTT 的还原能力差异较大，推荐根据细胞类型单独优化接种密度、反应时间和检测波长。
6. 废液和含 DMSO 的染色后废弃物应按照实验室化学废弃物和生物安全要求处理。



六、免责声明与客户服务

本产品应按照产品说明书所载明的适用范围、操作方法及储存条件使用。由于不同实验体系、样本来源及操作条件可能存在差异，用户在使用前应结合自身实验目的对产品适用性进行评估与验证。对于未按说明书要求使用、超出产品适用范围使用，或因操作条件变更而导致的实验结果差异或相关影响，本公司不承担相应责任。如需技术支持或更多产品信息，请联系 SPERIKON。

