
MTT 检测实验方法

实验概述

活细胞特别是增殖期细胞线粒体中的琥珀脱氢酶能使外源性 MTT（即黄色噻唑兰）还原成难溶于水的蓝紫色针状 Formazan 结晶并沉淀在细胞中，且 Formazan 的形成量与细胞活力成正比，二甲基亚砷（DMSO）能够溶解 Formazan 结晶，用酶标仪在 490nm 波长处测定其吸收值，即可间接反映细胞增殖情况。

实验设计

根据实验需要设置组别，每组各 3 个复孔，分别取 3~5 个时间点进行 MTT 检测。

Time \ Group	1			2			3		
1									
2									
3									
4									
5									

实验材料

1. 主要试剂

MTT 北京鼎国生物技术有限责任公司 货号：DH343-2

DMSO 上海国药集团

2. 主要仪器

酶标仪 Biotek Elx800

实验步骤

1. 将处于对数生长期的各实验组细胞胰酶消化后，完全培养基重悬成细胞悬液
2. 用血球计数板对计数细胞
3. 根据细胞生长快慢决定铺板细胞密度（多数为 2000 cell/well）。 每组 3-5 复孔，每孔 100 μ l，共 5 张 96 孔板，用于连续检测 5 天，铺板过程中要确保每孔加入细胞数目的一致
4. 统一铺好板后，置 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 培养箱培养
5. 从铺板后第二天开始，培养终止前 4h，每孔加入 10 μ l 5mg/ml 的 MTT，无需换液
6. 4h 后，吸弃培养液，每孔加入 100 μ l DMSO 终止反应
7. 振荡器振荡 5-10min，酶标仪 490nm 检测 OD 值
8. 对数据进行统计绘图（仅供参考）

注：此操作为 MTT 实验的通用操作，具体的实验方案设计见合同和实验结果