



MTT 实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
立式冷藏柜	海尔	SC-332
台式高速冷冻离心机	湖南恒诺仪器设备有限公司	2-16R
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
CO ₂ 细胞培养箱	Thermo	4131
电热恒温水浴锅	恩谊	HH-48

2、主要实验试剂及耗材

耗材	厂家	货号
1.5 ml 离心管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-15-W
2 ml 研磨管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-20-W
10 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-10
100 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-100
200 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-200
1000 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-1000
5000 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-5000
T25	安徽科兔生物科技有限公司	KTP-25-T
胰酶	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-18
PBS 缓冲液	安徽科兔生物科技有限公司	RG-RT-01
DMEM 培养基	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-2
血清	安徽科兔生物科技有限公司	CG-SR-02
6 孔板	安徽科兔生物科技有限公司	KTB-6
Lipofectamine 3000	赛默飞	L3000015
Opti-MEM	赛默飞	31985070



二、MTT 实验步骤

1) 细胞处理与分组

将 XX 细胞按实验设计接种于培养板（6 孔板），培养至细胞融合度约 50–70% 时进行转染。按照组别处理细后接种于 96 孔板，通常每孔加入 100 μL 细胞悬液（约 $2 \times 10^3 - 5 \times 10^3$ cells/孔）

2) 试剂制备:MTT 储备液按说明书配制：称取 25 mg MTT，加入 5 mL MTT 溶剂充分溶解，配制成 5 mg/mL 的 MTT 溶液，避光保存（现配现用或分装后 -20°C 避光保存）。

3)到达检测时间点后，每孔加入 10 μL 5 mg/mL MTT 溶液（终浓度约 0.45–0.5 mg/mL）， 37°C 、5% CO_2 孵育 4 h 以形成紫色 formazan 结晶。随后每孔加入 100 μL Formazan 溶解液，轻轻混匀并继续在 37°C 孵育直至结晶完全溶解（通常 3–4 h；若结晶较多可间歇轻摇以促进溶解）。在普通倒置显微镜下观察确认无明显结晶残留后进行吸光度读取。

4. 吸光度测定

使用酶标仪在 570 nm 波长处测定各孔吸光度（OD570）；并设置空白孔（仅培养基+MTT+溶解液，无细胞）作为背景对照。

5. 数据处理

细胞活力以 OD 值反映，并按下式计算相对细胞活力：

$$\text{Cell viability (\%)} = (\text{OD}_{\text{treated}} - \text{OD}_{\text{blank}}) / (\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank}}) \times 100\%。$$