



XTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂

货号: R41174-500T

产品简介:

XTT(二甲氧喹黄)是一种类似于MTT的化合物,在电子耦合试剂存在的情况下,活细菌中存在与辅酶II相关的脱氢酶,可将黄色的XTT还原成水溶性的橘黄色的甲臞。生成的甲臞能够溶解在培养基中,不形成颗粒,可直接用酶标仪检测定吸光值。

产品组成:

组分	R41174-500T	储存条件
	500 tests	
XTT检测试剂	25 mL	-20℃,避光
电子耦合剂	1 mL	

注: XTT检测试剂收到后建议分装保存到-20℃,避光保存,一年有效(避免反复冻融)。

试剂盒以外自备仪器和试剂

96孔板、1.5 mL 微量离心管、低速离心机、平板摇床、酶标仪(450 nm波长)、微量移液器

注意事项

1. 本试剂盒的检测依赖于脱氢酶催化的反应,如果待检测体系中存在较多的还原剂,例如一些抗氧化剂会干扰检测,需设法去除。
2. 如果待测溶液有还原性,需提前测定不含细胞、但含有XTT检测溶液的空白吸光度(450 nm处)。如果该吸光度很小,则可以直接加入XTT检测溶液;如



果吸光度相对较大，则需要除去培养基，并用培养基洗涤细胞两次，然后加入新的100 μ L培养基和50 μ L XTT溶液进行检测。

3. 用酶标仪检测前请确保孔内没有气泡，否则会干扰测定。
4. 为保证您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作方法

(一) 针对细胞增殖/毒性检测

1. 在 96孔板加入细胞悬液100 μ L/孔（每孔细胞量约 5×10^4 个/mL），置于37℃、5% CO₂细胞培养箱中培养24 h，待细胞贴壁。
2. 根据实验需要，弃旧培养基，每孔加入100 μ L新鲜的含药培养基，同时设立阴性对照组，并继续孵育适当时间。
3. 使用前配制XTT工作液：每25 mL XTT检测液加入1 mL电子耦合剂，混合均匀，可4℃避光保存1个月。
4. 每孔加50 μ L XTT工作液，在37℃培养箱中孵育1~4 h。
5. 酶标仪在450 nm波长处检测每孔的光密度。

(二) 结果分析

您可以选择使用OD值或细胞数量来进行结果分析，我们提供以下方法供参考：

$$I. \text{细胞存活率}(\%) = [(As - Ab) / (Ac - Ab)] \times 100\%$$

$$\text{抑制率}(\%) = [(Ac - As) / (Ac - Ab)] \times 100\%$$

注：各重复孔的OD值取均数 $\pm$ SD。

As=实验孔吸光度（含有细胞，培养基，XTT和受试化合物的孔的吸光度）

Ab=空白孔吸光度（不含细胞、含有培养基和XTT的孔的吸光度）

Ac=对照孔吸光度（含有细胞，培养基和XTT的孔的吸光度）

II. IC₅₀: 抑制率=50%时的药物浓度；IC₉₀: 抑制率=10%时的药物浓度。

(三) 制作标准曲线



可以基于该曲线确定待测样品的细胞数，使用此标准曲线的先决条件是培养检测条件一致。

1. 细胞计数板计数细胞悬液中的细胞数，接种细胞。
2. 使用培养基等比稀释细胞悬液为一个浓度梯度，通常需要5-7个浓度梯度，每组3个复孔。然后接种细胞。（注意每孔的细胞数量。如果您将细胞悬液稀释在管中，在加入培养板的孔之前，请小心再次混匀细胞。每孔中细胞悬液的体积应该是一致的。）
3. 培养直至细胞贴壁（通常2-4 h），然后每100 μ L培养基加入50 μ L XTT。继续孵育1~4 h，用酶标仪测量450 nm处的吸光度。制作出一条以细胞数为X轴坐标，OD值为Y轴坐标的标准曲线。

不同细胞增殖和细胞毒性检测方式的比较

名称	检测原理	灵敏度	便捷度	检测方式	细胞毒性	是否直接检测增殖
MTT法	Formazan	+	+	酶标仪	高，细胞形态消失	否
WST-1法	Formazan	++	++	酶标仪	低，细胞形态不变	否
CCK-8法	Formazan	+++	+++	酶标仪	低，细胞形态不变	否
Calcein AM，PI法	酯酶活性作用	+	++	酶标仪、FCS、FM	低，细胞形态不变	否
EdU法	铜催化的叠氮化合物和炔烃的原 子共价反应	+++	+++	酶标仪、FCS、FM	需固定细胞	是