

产品信息表

产品编号 ABCONE – M59609
版本 1.0

产品名称: 噻唑蓝
英文名称: **Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide**
产品货号: **M59609**
CAS 号: **298-93-1**
分子式: **C₁₈H₁₆BrN₅S**
分子量: **414.3**

产品简介

噻唑蓝 (MTT), 也称作溴化噻唑蓝四氮唑, 是一种可接受氢离子的黄色化合物染料, 带正电荷, 具有细胞膜渗透性。可用于检测细胞增殖, 以替代传统研究中插入放射性同位素作为细胞分裂的研究方法。活细胞的线粒体中的琥珀酸脱氢酶可将其还原为不溶于水的蓝紫色结晶—甲瓚 (formazan)。甲瓚结晶是不能穿透细胞膜, 因此沉积在处于增殖且未受损伤的细胞内。将该蓝色晶体用 DMSO 或酸化的异丙醇溶解, 并且在 570nm 的波长处比色测量强度, 可间接反映活细胞数量。

产品性状

黄色到深黄绿色粉末。

储存条件

MTT 对光敏感。

冷冻保存 (-20° C) 时, 配制的 MTT 储存溶液可稳定至少 6 个月。MTT 溶液在 2-8° C 下存储超过 2 周可能会导致分解并产生错误的结果。

应用范围:

MTT 已经用作组织化学/细胞化学试剂, 也可用于检测 NAD。MTT 无法检测到组织中与 ADP 连接的酶系统, 这是由于所用的氰化物阱与阳离子结合所致。MTT 迅速还原为甲瓚, 与镍, 铜和钴螯合。钴螯合物用于机体氧化系统。像其他四唑盐一样, MTT 在很大程度上已被氯化硝基四氮唑蓝 (NBT) 取代。

MTT 可溶于水 (10 mg / ml), 乙醇 (20 mg / ml) 和 2-甲氧基乙醇 (20 mg / ml)。它也可溶于缓冲盐溶液和培养基 (5 mg / ml)。

使用方法: (以 96 孔板为例)

细胞生长的培养条件会影响检测检测, 因此进行 MTT 检测时需考虑这些条件, 包括: 培养时间, 传代次数以及生长培养

基的成分等。一般情况，48-72h 培养时间下，最初铺板的细胞密度可控制在 5,000-10,000/孔。

A. 工作液配制

1) MTT 溶液

生化研究中，常配制成 5mg/mL 的储备液。MTT 最好现配现用，可以称取 MTT 0.5g，溶于 100 mL 的磷酸缓冲液（PBS）或无酚红的培养基中，用 0.22 μ m 滤膜过滤以除去溶液里的细菌，4 $^{\circ}$ C 避光短时间保存。建议小剂量分装放到-20 $^{\circ}$ C 长期保存，避免反复冻融。如果购买的是小包装（如 250mg 或 1g）建议直接在瓶中溶解。

2) SDS-HCl 溶液（MTT 终止液）

取 10ml 0.01 M HCl 加入 1g SDS，颠倒混匀或者超声使其完全溶解，此时即为终止液。建议现配现用。

B. MTT 细胞增殖检测

1) 接种细胞：用含 10%胎牛血清（FBS）的培养液配制单个细胞悬液，调整细胞密度，以每孔 5000-10,000 个细胞接种到 96 孔板，每孔体积 100 μ l，培养板的边缘孔用无菌 PBS 填充。设置空白对照孔（不含有细胞）。

2) 培养细胞：同一般培养条件，培养 24-72h（可根据实验目的和要求自行调整）。

3) 可选：对于贴壁细胞，去除旧的培养液，更换 100 μ l/孔新鲜的培养液（不含酚红）；对于悬浮细胞，离心 96 孔板，去除尽可能多的上清液。然后加入 100 μ l/孔新鲜的培养液（不含酚红）重悬细胞；

4) 每孔加入 10 μ l MTT 溶液（5 mg/ml），加样时尽量勤换枪头，控制加量误差。

5) 水平摇床上低速混匀 1 min 后，放入 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 4h。注：对于高密度的细胞（>100,000 cells/孔）可缩短孵育时间至 2h。

6) 对于贴壁细胞，直接吸掉旧的培养液，避免枪尖刮破单细胞层。对于悬浮细胞，离心收集细胞，去除培养液。

7) 加入 100 μ l/孔 SDS-HCl 溶液，用枪充分混匀后放入 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 4 h。注：更长的孵育时间会降低检测灵敏度。

8) 孵育结束，每孔加 150 μ l DMSO，振荡 10min，使结晶物充分融解。放置在酶标仪上摇匀后，选择 570nm，测定吸光度。记录结果，比色以空白调零。

注：对于细胞毒性检测，以未经药物处理细胞的 OD 值为 100%，然后计算药物处理细胞所占的比率（x），公式如下：OD（未处理细胞）/OD（药物处理细胞）=100%/x。然后建立直方图。

注意事项

本产品仅用于实验室研究，不能药用或其它用途