

MTT 噻唑兰

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5967-250mg	MTT 噻唑兰	250mg
NBS5967-1g	MTT 噻唑兰	1g

产品简介:

噻唑兰 (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, 简称 MTT, CAS: 298-93-1), 也称作溴化噻唑蓝四氮唑, 是一种黄色染料, 已经广泛替代传统的台盼蓝染色法或者放射性同位素插入法, 用来检测细胞活力、细胞增殖以及毒性分析。MTT 是一种可接受氢离子的化合物染料, 带正电荷, 具有细胞膜渗透性。活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能够将外源进入的 MTT 还原成为水不溶性的深蓝色 MTT-甲臞结晶, 而死细胞不具此功能。甲臞结晶不能穿透细胞膜, 因此沉积在处于增殖且未受损伤的细胞内。甲臞结晶可用 DMSO 或者酸化的异丙醇溶解, 酶标仪测定的 570 nm 吸光度能反映甲臞的生成量。而甲臞的生成量与活细胞数目成正比, 因此可用来评估细胞存活状况。MTT 也可用在免疫组化和免疫细胞化学研究, 也可用于 NAD 水平检测。MTT 经快速还原为甲臞后, 能够螯合镍, 铜和钴离子。钴螯合物可参与细胞氧化系统。

产品特性:

- 1) CAS NO: 298-93-1
- 2) 英文同义名: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium Bromide; Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide; Thiazoyl blue tetrazolium bromide;
- 3) 中文同义名: 溴化噻唑蓝四氮唑; 3-(4,5-二甲基-2-噻唑)-2,5-二苯基溴化四氮唑噻唑蓝;
- 4) 分子式: C₁₈H₁₆N₅SB_r
- 5) 分子量: 414.3 g/mol
- 6) 外观: 淡黄色至橙色粉末
- 7) 纯度: ≥98%
- 8) 溶解性: 溶于水 (5 mg/ml)

保存条件:

4℃避光保存, 5 年有效。

产品使用:

细胞生长的培养条件会影响检测结果, 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 5000-10,000/孔。

【注意】: 最终检测的培养液内含有酚红会严重影响检测结果。推荐 MTT 检测时细胞培养在无酚红环境下, 也可以在 MTT 孵育的时候改用无酚红培养液。

A. 储存液配制

1) MTT 储存液

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 0.22μm 滤膜过滤除菌, 4℃避光短时间保存。建议小剂量分装放到 -20℃ 长期保存, 避免反复冻融, 至少 6 个月有效。

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【以 96 孔板为例】

1) 接种细胞: 用含 10%胎牛血清 (FBS) 的培养液配制成单个细胞悬液, 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 100μl, 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) 37℃, 5% CO₂, 培养 24-72h。

3) **【可选】:** 对于贴壁细胞, 去除旧的培养液, 更换 100μl/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 100μl/孔新鲜的培养液 (不含酚红) 重悬细胞;

4) 每孔加入 10μl 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 1min 后, 放入 37℃培养箱孵育 4h。**【注意】:** 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 100μl/孔 SDS-HCl 溶液, 用枪充分混匀后放入 37℃培养箱孵育 4h。**【注意】:** 更长的孵育时间会降低检测灵敏度。

8) 孵育结束，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。

【注意】：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： $OD(\text{未经药物处理细胞}) / OD(\text{药物处理细胞}) = 100\% / x$ 。然后建立直方图。

注意事项：

1. 溶解甲臞结晶的有机溶剂具有毒性，使用时注意防护。
2. MTT 有致癌性应小心操作；MTT 溶液 4℃保存不可超过 1 周，否则会发生降解并导致检测结果错误。
3. MTT 法属于半定量检测，只能用来检测细胞相对数和相对活力，但不能测定细胞绝对数。用酶标仪检测结果的时候，为了保证实验结果的线性，MTT 吸光度最好在 0-0.7 范围内。
4. 建议用平底酶标板来做 MTT 检测，仅当要求细胞生长量比较高的情况下首推组织培养级的培养板。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NBS6146-5g</u>	<u>Trypan Blue 台盼蓝</u>	5g
<u>NBS6274-50ml</u>	<u>0.4% Trypan Blue solution 台盼蓝染色液(0.4%)</u>	50ml
<u>NBS4211-50mg</u>	<u>5-Ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) 5-乙炔基-2' -脱氧尿苷</u>	50mg
<u>NBS5813-100mg</u>	<u>5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷</u>	100mg
<u>NBS5967-250mg</u>	<u>MTT 噻唑兰</u>	250mg
<u>NBS5968-1g</u>	<u>Resazurin Sodium Salt 刃天青钠盐</u>	1g
<u>NBS5969-25mg</u>	<u>XTT Sodium Salt XTT 钠盐</u>	25mg
<u>NBS7697-100T</u>	<u>Trypan Blue Staining Cell Viability Assay Kit 台盼蓝染色 细胞存活率检测试剂盒</u>	100T
<u>NBS7698-500T</u>	<u>MTT Cell Proliferation and Cytotoxicity Assay Kit MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒</u>	500T
<u>NBS7699-500T</u>	<u>Alamar Blue 阿尔玛蓝细胞增殖及毒性检测试剂</u>	5ml (500T)
<u>NBS1157-500T</u>	<u>CCK-8 细胞增殖及毒性检测试剂</u>	5ml (500T)