

## MTT 噻唑兰

### 产品信息

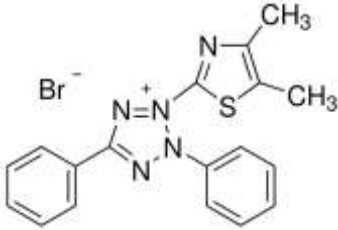
产品名称	产品编号	规格
MTT 噻唑兰	40201ES72	250 mg
	40201ES80	1 g

### 产品描述

噻唑兰 (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT), 也称作溴化噻唑蓝四氮唑, 是一种黄色染料, 已经普遍替代传统的台盼蓝染色法或者放射性同位素插入法, 用来检测细胞的活力, 细胞增殖以及细胞毒性分析。检测原理在于: 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, 而死细胞不具有此功能。甲臞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。甲臞结晶可用 DMSO 或者酸化的异丙醇溶解出来, 酶标仪下测定 570 nm 的吸光度反映甲臞的生成量。而甲臞的生成量与活细胞数目成正比, 用以评估细胞存活状况。

MTT 也可用作免疫组化/细胞化学染色试剂, 也可用来检测 NAD。MTT 被快速还原成甲臞后, 能够螯合镍, 铜和钴。钴螯合物可参与机体氧化系统。

### 产品性质

中文别名 (Chinese synonym)	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;
英文别名 (English synonym)	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium Bromide; Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide; Thiazoyl blue tetrazolium bromide;
CAS 号 (CAS NO.)	298-93-1
分子式 (Formula)	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> N <sub>3</sub> SBr
外观 (Appearance)	淡黄色至橙色粉末
分子量 (Molecular weight)	414.3
纯度 (purity)	≥98%
熔点 (Melting point)	187°C
溶解性 (Solubility)	溶于水, 甲醇
结构式 (Structure)	

### 运输和保存方法

冰袋运输。4°C避光干燥保存, 有效期 2 年。

## 注意事项

- 1) 溶解甲臜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 溶液需要无菌，因其对菌很敏感。MTT 溶液不可 4°C 保存超过 1 周，因其可能发生降解，导致检测结果错误。
- 3) MTT 法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。在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) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 5) 本产品仅作科研用途！

## 使用方法（以 96 孔板为例）

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，48-72 h 培养时间下，最初铺板的细胞密度可控制在 5000-10,000/孔。

**【注】：**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. 工作液配制

#### 1) MTT 溶液

生化研究中，常配制 5 mg/mL 的储备液。MTT 最好现配现用，可以称取 MTT 0.5 g，溶于 100 mL 的磷酸缓冲液（PBS）或无酚红的培养基中，用 0.22 μm 滤膜过滤以除去溶液里的细菌，4°C 避光短时间保存。建议小剂量分装放到 -20°C 长期保存，避免反复冻融。

#### 2) SDS-HCl 溶液（MTT 终止液）

取 10 mL 0.01 M HCl 加入 1 g 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 μL，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°C，5% CO<sub>2</sub>，培养 24-72 h。

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

4) 每孔加入 10 μL 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°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 2 h。

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 μL/孔 SDS-HCl 溶液，用枪充分混匀后放入 37°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，放置在酶标仪上摇匀后，选择 570 nm，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：

$OD(\text{未处理细胞}) / OD(\text{药物处理细胞}) = 100\% / x$ 。然后建立直方图。