

Stanovení metabolické aktivity buněk MTT testem

MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyltetrazolium bromid) 5 g.l⁻¹ v izotonickém fosfátovém pufru pH 7,4 (**zdraví škodlivé**).

Extrakční pufr (20 % lauroylsírán sodný v 50% dimetylformamidu, pH 4,7, **zdraví škodlivé**).

Princip

Žluté MTT se mitochondriálními enzymy dýchacího řetězce redukuje na fialový formazanový derivát, který zůstává uvnitř buněk ve formě nerozpustných granulí. Po přidání detergentu (lauroylsírán sodný, SDS) a okyselení se barvivo z buněk uvolní a rozpustí, takže vznikne čirý roztok vhodný k fotometrickému stanovení.

Postup

1. K 0,5 ml promíchané buněčné suspenzi se přidá 100 µl roztoku MTT a inkubuje se 45 minut při 37 °C.
2. K suspenzi se přidá 0,5 ml extrakčního pufru, směs se promíchá a inkubuje se 10 minut při 37 °C.
3. Změří se absorbance při 595 nm proti destilované vodě.

Odkazy

Zdroj

VEJRAŽKA, M.: *Základní techniky práce s tkáňovými kulturami*. Praha, 2004.