



TEL: 400-8858-211
www.stverbio.com
北京市延庆区康庄镇
科技服务中心133

氯化四唑氮蓝

产品名称	CAS号	储存条件	品牌
氯化四唑氮蓝	298-83-9	4℃避光	VerSci

一、产品简介

氯化四唑氮蓝主要作为碱性磷酸酶底物之一，在碱性磷酸酶的催化下生成不溶性的蓝色产物，常用于免疫组化、免疫细胞化学和蛋白印迹等实验。也可作为脱氢酶和其它过氧化酶的底物，用于测定葡萄糖 - 6 - 磷酸脱氢酶，还是凝血因子 I 的沉淀试剂。硝基四唑蓝(NBT)与BCIP联合使用是检测蛋白质印迹中标记探针所必需的。它是比色检测方法的一部分。NBT和BCIP染料检测碱性磷酸酶活性，从而产生不溶性紫色染料(双胍)。在标记探针与目标杂交的区域，可以看到染色。

二、理化性质

有吸湿性，对光敏感。易溶于乙醇、甲醇和氯仿，微溶于水，不溶于乙酸乙酯、乙醚和丙酮，还原电位约 - 0.08 伏，当有还原剂时会产生深蓝色二甲色素。熔点为 245~247℃（分解）。

三、使用说明

- 1.储存液（10%）：称取 1 g NBT，溶于 10 mL 蒸馏水（或 PBS），搅拌至完全溶解（可稍加热助溶），过滤除菌后分装，-20℃避光保存（稳定 6 个月）。
- 2.工作液：根据实验需求，用缓冲液（如 PBS、Tris-HCl）将储存液稀释至所需浓度（通常 0.1%~0.5%），现配现用，避免光照。
- 3.常用适用使用方法
 - 1. 中性粒细胞吞噬功能检测（NBT 还原试验）
操作步骤：
样品制备：取新鲜全血或分离的中性粒细胞，用 Hank's 液调整细胞浓度至 1×10^6 个 /mL。
反应体系配制：在细胞悬液中加入 NBT 溶液（终浓度 0.2%~0.5%），37℃孵育 30~60 分钟（需轻微振荡）。
结果观察：活化的中性粒细胞内会形成深蓝色甲臞颗粒，计数阳性细胞比例（ ≥ 100 个细胞），阳性率越高，吞噬功能越强。
终止与固定：若需保存，可加入甲醇固定 10 分钟，蒸馏水洗涤后镜检。
 - 2. 碱性磷酸酶（ALP）显色（免疫组化 / WB 辅助）



TEL: 400-8858-211

www.stverbio.com

北京市延庆区康庄镇

科技服务中心133

样品预处理：组织切片、细胞爬片或蛋白印迹膜经一抗、ALP 标记二抗孵育后，用 PBST 洗涤 3 次（每次 5 分钟）。

显色液配制（避光）：在碱性缓冲液（如 Tris-HCl, pH 9.5）中，加入 NBT（终浓度 0.33 mg/mL）和 BCIP（5 - 溴 - 4 - 氯 - 3 - 吡啶基磷酸，终浓度 0.165 mg/mL），混合均匀。

显色反应：将样品浸入显色液，室温避光孵育 5~30 分钟（根据显色强度调整，镜下观察控制）。

终止反应：用蒸馏水冲洗 3 次，或加入 EDTA 溶液（终浓度 10 mM）终止，防止过度显色。

3. 细胞氧化应激检测（超氧阴离子检测）

操作步骤：细胞培养：取对数期细胞，接种于 96 孔板或培养皿，处理后（如刺激剂诱导氧化应激）。

NBT 孵育：加入 NBT 溶液（终浓度 0.2%），37°C 孵育 1~2 小时。

结果观察：细胞内超氧阴离子可还原 NBT 形成深蓝色甲臞颗粒，通过显微镜观察颗粒数量，或溶解后（如用二甲亚砜）在 560 nm 处测吸光度定量。

四、应用

- 1, 硝基四唑蓝氯,可用于检测细胞内氧代谢物的生成;
- 2, 它已被用作蛋白质印记分析检测的一个底物;
- 3, 它已可用于组织切片的染色;
- 4, 脱氢酶和其他氧化酶的底物。

五、货号特点

VE03354：纯度≥90.0% (HPLC),内含≤10%溶剂,性状为粉末，可用于诊断试剂制造，血液学，组织学实验。

六、注意事项

避光操作：NBT 对光敏感，溶液需避光保存，孵育时用铝箔包裹容器，防止光照分解。

干扰因素：反应体系中若存在强还原剂（如巯基化合物），可能导致非特异性显色，需提前处理样品去除干扰。

终止时机：显色反应需实时观察，避免过度显色掩盖信号（尤其免疫组化中）。