

## 产品组成:

|                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| 规格                | 100 -200 assays |
| Hoechst 33258 染色液 | 1 ml            |
| 试剂 B              | 10 ml           |

## 储存条件:

染液 2-8°C 避光保存。长期保存-20°C 避光保存。

试剂 B 2-8°C 保存。

**有效期:** 一年。

## 产品简介:

Hoechst 染色试剂盒可用于细胞凋亡检测，也可用于普通的细胞核染色以及某些特定情况下的双链 DNA 染色，染色后可用荧光显微镜检测或流式细胞仪检测。Hoechst 33258 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料，对细胞的毒性较低。Hoechst 33258 能少许进入正常细胞膜，使其染上低蓝色，而凋亡细胞的膜通透性增强，因此进入凋亡细胞中的 Hoechst 33258 比正常细胞的多，荧光强度要比正常细胞中要高，此外，凋亡细胞的染色体 DNA 的结构发生了改变从而使该染料能更有效地与 DNA 结合，并且凋亡细胞膜上的 p-糖蛋白泵功能受到损伤不能有效地将 Hoechst 33258 排出到细胞外使之在细胞内积累增加等都使凋亡细胞的蓝色荧光增强。Hoechst 33258 的最大激发波长为 346nm，最大发射波长为 460nm；Hoechst 33258 和双链 DNA 结合后，最大激发波长为 352nm，最大发射波长为 461nm。本 Hoechst 33258 染色试剂盒可直接用于活细胞或组织的细胞核染色，也可用于固定细胞或组织的细胞核染色。

## 使用方法:

本染色试剂盒可用于细胞、细胞涂片、石蜡切片、冰冻切片的检测。石蜡切片用常规方法脱蜡、分化、冰冻切片用冰丙酮固定后检测。以下以培养细胞的涂片的荧光显微镜检测为例，细胞染色也可不用多聚甲醛固定，其他方法请参阅相关资料。

### 1、染色工作液的配制：

根据样品数用 PBS 将 Hoechst 染色液 20 倍-50 倍稀释，配制成染色工作液。

### 2、细胞涂片的制备：

贴壁细胞，可将盖玻片放于培养器皿中，让培养细胞长于玻片上，然后用药物诱导细胞凋亡后取出，用 4% 多聚甲醛固定 5min。也可其他方式培养后收集细胞制作涂片检测。

对于悬浮细胞，用药物诱导细胞凋亡后，1000-2000rpm 离心 5 分钟收集细胞，用 PBS 洗 2 次，收集调整细胞数为  $1 \times 10^5$ /ml，涂片或用离心涂片，用 4% 多聚甲醛固定 5min；

### 3、用 PBS 洗涤涂片两次。

### 4、加适量染色工作液于涂片上，室温避光染色 5-20 分钟。

### 5、用 10 倍稀释的试剂 B 洗涤涂片。

### 6、用荧光显微镜检测结果。染料-DNA 复合物的最大激发波长为 352nm，最大发射波长为 461nm。

## 结果分析：

Hoechst 33258 染色后，置于荧光显微镜下，选用 340-350nm 的激发光观察：正常细胞的细胞核呈弥散均匀蓝色荧光，凋亡细胞核或细胞质内可见浓染致密的颗粒块状蓝色荧光，颜色有些发白。如果见到 3 个或 3 个以上的 DNA 荧光碎片被认为是凋亡细胞。