

Version 2

CytoDet Hoechst 33258染色液

CytoDet Hoechst 33258 Solution

Code No. AG51011

包装量:

1 ml (1 mg / ml)

保存温度: -20℃

▶ 产品概述

本产品是基于 Hoechst 33258【4-(5-(4-甲基哌嗪-1-基)-1H,1 'H-[2,5'-联苯并[D]咪唑]-2'-基)苯酚】的荧光染料,广泛应用于细胞成像技术中 DNA 和细胞核染色。其检测原理是 Hoechst 33258 能够渗透细胞膜与 dsDNA 的腺嘌呤-胸腺嘧啶(A-T)小沟处结合,从而对细胞核染色。Hoechst 33258 本身荧光背景较低,与 dsDNA 结合后发出强烈的蓝色荧光(最大激发光与发射光分别为 Ex = 352 nm,Em = 461 nm)。Hoechst 33258 染色常用于细胞凋亡检测、普通的细胞核染色或常规的 DNA 染色,染色后可用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。本产品操作简单,仅需将 Hoechst 33258 溶液稀释至合适浓度后覆盖样本,孵育一定时间后即可观察到明亮的蓝色荧光。

本产品可广泛用于活细胞、固定细胞或组织、石蜡切片的细胞核染色、细胞凋亡和细胞周期分析;由于 Hoechst 33258 对活细胞细胞膜的渗透性差,因此对健康的活细胞染色时蓝色荧光强度较弱,对于凋亡细胞或者细胞膜受损伤的细胞,则会发出明亮的蓝色荧光;若对健康的活细胞染色时需要有明亮的蓝色荧光,可使用*CytoDet* Hoechst 33342 Solution(Code No. AG51012)。

▶ 保存及运输

保存温度: -20℃ 避光保存 运输温度: -20℃ 冰袋运输

▶ 产品组成

Hoechst 33258 Solution (1 mg/ml)

1 ml

> 实验操作

A. 活细胞或组织染色

- 对于在细胞培养皿或细胞培养板中的活细胞或组织,可直接将 Hoechst 33258 Solution 按照 1:100 比例添加至培养液中(例如向 1 ml 培养液中加入 10 μ l Hoechst 33258 Solution, Hoechst 33258 Solution 终浓度为 10 μ g/ ml),用移液枪轻柔吹打混匀。【注: Hoechst 33258 的浓度可根据染色效果进行调整,若染色效果弱,可提高浓度;若染色效果过强,可降低浓度。】
- 2. 将培养皿或细胞培养板放置于 37℃ 细胞培养箱中孵育 10 ~ 20 min。
- 3. 使用 PBS 清洗细胞 2~3 次,方法如下【注:若在不清洗的条件下成像,荧光强度可能会随时间的推移而增强】:
 - ◆ 对于贴壁细胞或组织,去除细胞培养皿或细胞培养板中含染色液的上清,再加入适量 PBS 或其它合适的缓冲液,覆盖住样本即可,洗涤 2-3 次。
 - ◆ 对于悬浮细胞,离心收集细胞沉淀,去除含染色液的上清,然 后用 PBS 或其它合适的缓冲液重悬细胞,离心收集细胞沉淀, 洗涤 2~3 次。
- 4. 加入适量的 PBS 后,直接在荧光显微镜下观察,激发光为紫外光。



B. 固定细胞或组织染色

- 对于固定的细胞或组织样本,固定后用 PBS 洗涤 2~3 次去除固定剂。 【注意:若要进行免疫荧光染色,则先参照免疫荧光染色说明书进行 染色,染色完毕后再参照下述步骤进行细胞核染色。】
- 配制 10 μ g/ ml Hoechst 33258 染色工作液:例如向 1 ml PBS 中加入 10 μl Hoechst 33258 Solution (PBS : Hoechst 33258 = 100 : 1) , 用移液器吹打混匀。【注: Hoechst 33258 的浓度可根据染色效果进行调整,若染色效果弱,可提高浓度;若染色效果过强,可降低浓度。】

3. 染色:

- ◆ 对于贴壁细胞或组织,可直接在细胞培养板或载玻片上加入适量的 Hoechst 33258 染色工作液,覆盖住样本即可。室温避光孵育5 min。
- ◆ 对于悬浮细胞,离心收集细胞,去除上清,然后加入 1 ml Hoecst 33258 染色工作液,室温避光孵育 5 min。
- 4. 使用 PBS 清洗细胞 2~3 次,方法如下【注:若在不清洗的条件下成像,荧光强度可能会随时间的推移而增强】:
 - ◆ 对于贴壁细胞或组织,去除含染色液的上清,再加入适量 PBS 或 其它合适的缓冲液,覆盖住样本即可,洗涤 2~3 次。
 - ◆ 对于悬浮细胞,离心收集细胞沉淀,去除含染色液的上清,然后用 PBS 或其它合适的缓冲液重悬细胞,离心收集细胞沉淀,洗涤 2~3 次。
- 5. 加入适量的 PBS 后,直接在荧光显微镜下观察,激发光为紫外光。

C. 石蜡切片染色

- 在常规的包埋切片后,可以用二甲苯或其他脱蜡液进行脱蜡,梯度酒精 清洗至水。
- 2. 用 PBS 或其它缓冲液洗涤 2~3 次,洗涤时宜用摇床或手动晃动数次, 吸去 PBS。
- 配制 10 μ g/ ml Hoechst 33258 染色工作液: 例如向 1 ml PBS 中加入 10 μ l Hoechst 33258 Solution (PBS: Hoechst 33258 = 100:1), 用 移液器吹打混匀。 【注: Hoechst 33258 的浓度可根据染色效果进行调整,若染色效果弱,可提高浓度; 若染色效果过强,可降低浓度。】
- 染色:加入适量 10 μg/ ml Hoechst 33258 染色工作液,覆盖住样本即可,室温避光孵育 5 min。
- 5. 吸去染色液,然后用 PBS 或其它缓冲液洗涤 2~3 次,洗涤时宜用摇床或手动晃动数次。【注:若在不清洗的条件下成像,荧光强度可能会随时间的推移而增强。】
- 6. 直接在荧光显微镜下观察、激发光为紫外光。

详细信息请查阅 www.agbio.com.cn