

# Hoechst33258 染色液(50×)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

## 产品简介：

Hoechst33258 也称 bisBenzimide H 33258 或 HOE 33258，分子式为  $C_{25}H_{24}N_6O \cdot 3HCl$ ，分子量为 533.88，CAS Number 23491-45-4。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，常用于细胞凋亡检测，染色后用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。Hoechst 33258 也用于普通的细胞核染色、DNA 染色。

Hoechst33258 的最大激収波长为 346nm，最大収射波长为 460nm，Hoechst 33258 和双链 DNA 结合后，最大激収波长为 352nm，最大収射波长为 461nm。Hoechst 33258 染色液(50×)可用于固定细胞或组织的细胞核染色，也可直接用于活细胞或组织的细胞核染色。

## 产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
试剂(A): Hoechst 33258 浓缩液(50×)	1ml	-20℃ 避光	1 份	1 年
试剂(B): Hoechst Buffer	50ml	4℃	1 份	1 年

## 自备材料：

- 1、荧光显微镜
- 2、蒸馏水
- 3、微量桐液器
- 4、PBS 或生理盐水

## 操作步骤(仅供参考)：

### (一)固定的组织细胞染色

- 1、配制 Hoechst33258 染色工作液：按 Hoechst 33258 浓缩液(50×)：Hoechst Buffer=1:50 的比例混合，即为 Hoechst33258 染色工作液。
- 2、对于细胞或组织样品，固定后冲洗去除固定剂。如果需要进行免疫荧光染色，则先进行免疫荧光染色，染色完毕后再按后续步骤进行 Hoechst 33258 染色，如果不需要进行其它染色，则直接进行后续的 Hoechst33258 染色。对于贴壁细胞或组织切片，加入少量 Hoechst 33258 染色工作液，覆盖住样品即可。对于悬浮细胞，至少加入待染色样品 3 倍体积以上的 Hoechst33258 染色工作液，充分混匀。

- 3、室温放置 5~8min。
- 4、轻轻吸除 Hoechst 33258 染色工作液。
- 5、用无菌的 PBS 或生理盐水清洗 2~3 次，每次 3~5min。

6 直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。

#### (二)活细胞染色

- 1、配制 Hoechst33258 染色工作液：按 Hoechst 33258 浓缩液(50×)：Hoechst Buffer=1:50 的比例混合，即为 Hoechst 33258 染色工作液。
- 2、96、24、6 孔板培养细胞至合适状态，按 96 孔板加入 100  $\mu$ l、24 孔板加入 500  $\mu$ l、6 孔板加入 1ml 的比例，加入适当的 Hoechst 33258 染色工作液，染液必须充分覆盖细胞。
- 3、在适宜于细胞培养的条件下培养 20~30min。
- 4、轻轻吸除 Hoechst 33258 染色工作液。
- 5、用无菌的 PBS 或生理盐水清洗 2~3 次，每次 3~5min。6、进行荧光检测。

#### 注意事项：

- 1、Hoechst 33258 染色液的浓度可根据具体实验自行调节，如 40 倍稀释。
- 2、荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。活细胞或组织染色后宜立即观察。
- 3、为减缓荧光淬灭可以使用抗荧光淬灭封片液。
- 4、避免反复冻融，否则容易失效。
- 5、Hoechst 33258 对人体有一定刺激性，请注意适当防护。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 相关产品：

台盼蓝染色液(0.4%)
葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
碘化丙啶 PI 染色液(50ug/ml,含 RNase)
磷酸缓冲盐溶液(10×PBS,无钙镁)
Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒
糖原 PAS 染色液