

Hoechst33258 染色液(1mg/ml)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 H33258 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。

Hoechst 33258 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 染色液是浓缩的储存液，稀释后使用，一般推荐工作浓度为 $1 \sim 5 \mu g/ml$ ，用于固定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
Hoechst 33258 染色液(1mg/ml)	1ml	-20℃ 避光	1 份	1 年

自备材料：

- 1、荧光显微镜
- 2、蒸馏水
- 3、微量移液器
- 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、根据实验具体要求，用无菌去离子水稀释到自己所需浓度，即为 Hoechst 33258 染色工作液。细胞核染色时，一般推荐工作浓度为 $1 \sim 5 \mu g/ml$ 。
 - 2、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 Hoechst 33258 染色液，充分混匀。
 - 3、室温放置 5~8min。
 - 4、轻轻吸除 Hoechst 33258 染色液。
 - 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、根据实验具体要求，用无菌去离子水稀释到自己所需浓度，即为 Hoechst 33258 染色工作液。细胞核染色时，一般推荐工作浓度为 $1\sim 5\ \mu\text{g/ml}$ 。
- 2、支 96、24、6 孔板培养细胞至合适状态，按 96 孔板加入 $100\ \mu\text{l}$ 、24 孔板加入 $500\ \mu\text{l}$ 、6 孔板加入 1ml 的比例，加入适当的 Hoechst 33258 染色液，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 $20\sim 30\text{min}$ 。
- 4、轻轻吸除 Hoechst 33258 染色液。
- 5、用无菌的 PBS 或生理盐水清洗 $2\sim 3$ 次，每次 $3\sim 5\text{min}$ 。
- 6、进行荧光检测。

注意事项：

- 1、Hoechst 33258 染色液(1mg/ml)应稀释至合适的浓度后使用。
- 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：

碘化丙啶 PI 染色液($50\mu\text{g/ml}$,含 RNase)
Lezol(总 RNA 提取试剂)
D-Hanks 平衡盐溶液($1\times$,含酚红)
葡萄糖检测试剂盒(GOD-POD 比色法)
SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒
磷酸缓冲盐溶液($10\times\text{PBS}$,无钙镁)
糖原 PAS 染色液
台盼蓝染色液(0.4%)