

使用说明书

Instruction Manual

Hoechst 33258 染色液

Hoechst 33258 Staining Solution

产品描述

Hoechst 33258 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料，它能特异性嵌入 DNA 双链的 AT 富集区域，对细胞的毒性较低，常用于细胞核染色。当 Hoechst 33258 未与 DNA 结合时，游离状态 Hoechst 33258 发出的荧光强度极低，几乎无荧光（最大激发波长为 346 nm，最大发射波长为 460 nm）；而当 Hoechst 33258 嵌入双链 DNA 后，其荧光特性改变，被激发后可发出明亮的蓝色荧光（最大激发波长为 352 nm，最大发射波长为 461 nm），且荧光强度随 DNA 含量增加而增强，便于定量分析。Hoechst 33258 常用于细胞凋亡检测，染色后可用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测染色结果。

产品信息

Hoechst 33258 染色液	
Ingredient	Hoechst 33258 trihydrochloride
CAS	23491-45-4
Conc.	5 mg/mL
Solvent	ddH ₂ O

产品特点

1. DNA 标记特异性强，对 DNA 的亲合力显著高于 RNA，RNA 背景干扰小。
2. 细胞膜通透性好，无需破膜。
3. 细胞毒性低，可用于短期（数小时）活细胞追踪实验。
4. 兼容性好，可与多重荧光探针共染。
5. 操作简便，检测快速。

产品应用

细胞核形态观察与计数、活细胞动态追踪、细胞凋亡检测、药物毒性评估、染色体核型鉴定、核定位信号研究。

工作液配制

用 PBS 将 Hoechst 33258 储备液稀释为 0.5-10 $\mu\text{g/mL}$ 的 Hoechst 33258 染色工作液（避光操作）。具体浓度根据样本和实验需要进行调整。

使用说明

1. 贴壁细胞染色

- (1) 将细胞爬片从培养箱取出，用 PBS 洗涤 3 次，每次 3 min。
- (2) 加入 4%多聚甲醛，室温固定 10 min。PBS 洗涤 3 次，每次 3 min。
- (3) 若需要免疫荧光染色，则先进行免疫荧光染色，再进行 Hoechst 33258 染色。若不需其它染色，则直接进行 Hoechst 33258 染色。
- (4) 加入 Hoechst 33258 染色工作液，室温下避光孵育 10-20 min。PBS 洗涤 3 次，每次 3 min。
- (5) 在载玻片上滴加适量抗荧光猝灭液，将有细胞的那面爬片贴合抗荧光猝灭液并放置其上，在爬片周围滴加封片液以封片。
- (6) 在荧光显微镜下观察并拍照记录。Ex=352 nm, Em=461 nm 左右。

2. 悬浮细胞染色

- (1) 以 1000 rpm、4℃离心 5 min 收集悬浮细胞，弃上清。用 PBS 重悬并洗涤 2 次。
- (2) 若需要免疫荧光染色，则先进行免疫荧光染色，再进行 Hoechst 33258 染色。若不需其它染色，则直接进行 Hoechst 33258 染色。
- (3) 加入 Hoechst 33258 染色工作液，室温避光孵育 15-30 min。1000 rpm、4℃离心 5 min，弃上清，用 PBS 洗 1 次。
- (4) 加入 PBS 重悬，用于流式细胞术检测或制成细胞涂片后在荧光显微镜下检测。Ex=352 nm, Em=461 nm 左右。

储存条件

-20℃避光保存，一年有效。

注意事项

1. Hoechst 33258 具备亲脂性，可通过细胞膜的脂质双分子层被动扩散进入活细胞，实验时无需额外的破膜处理。用 Hoechst 33258 对活细胞染色时，无需固定步骤。
2. 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。
3. 本品仅适用于专业科研用途，严禁用于临床诊断、治疗、食品或药品领域，且不得存放于住宅等非专业场所。
4. 为保障操作安全与人员健康，操作时请务必穿戴实验服并佩戴一次性手套。

