

# 使用说明书

Instruction Manual

TargetMol  
YOUR TARGET MOLECULES

## Hoechst 33342 染色液

### Hoechst 33342 Staining Solution

#### 产品描述

Hoechst 33342 是一种可对细胞核染色的蓝色荧光染料，可以穿透细胞膜。游离状态的 Hoechst 33342 荧光微弱或几乎不发荧光（最大激发波长为 346 nm，最大发射波长为 460 nm）。当 Hoechst 33342 染料与双链 DNA 的 A-T 富含区结合后，在紫外线激发下可发出蓝色荧光（最大激发波长为 350 nm，最大发射波长为 461 nm）。活细胞对 Hoechst 33342 染料具有一定摄取能力，而凋亡细胞因细胞膜通透性改变，摄取该染料增多，发出的荧光强度更高。由此可以通过检测荧光强度来分析活细胞、凋亡细胞和坏死细胞，Hoechst 33342 荧光染色常用于细胞凋亡检测、细胞周期分析以及细胞活性鉴定等。

#### 产品信息

Hoechst 33342 染色液	
Ingredient	Hoechst 33342 trihydrochloride
CAS	875756-97-1
Conc.	5 mg/mL
Solvent	ddH <sub>2</sub> O

#### 产品特点

1. 细胞核标记特异性强，对 DNA 的亲合力显著高于 RNA，RNA 背景干扰小。
2. 细胞毒性低，可用于活细胞标记研究。
3. 兼容性好，可与多重荧光探针共染。
4. 操作简便，检测快速。

#### 产品应用

细胞凋亡检测、细胞周期分析、细胞活性鉴定、药物毒理学评估。

#### 工作液配制

用 PBS 将 Hoechst 33342 储备液稀释为 0.5-10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 Hoechst 33342 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) 吸除旧培养基，加入适量 PBS 洗涤细胞 1-3 次，每次 3 min。
- (2) (可选) 加入 4% 多聚甲醛，室温固定 10 min。吸除固定液，PBS 洗涤 3 次，每次 3 min。
- (3) (可选) 若需要免疫荧光染色，则先进行免疫荧光染色，再进行 Hoechst 33342 染色。若不需其它染色，则直接进行 Hoechst 33342 染色。
- (4) 加入适量 Hoechst 33342 染色工作液覆盖住细胞。对于固定的组织和细胞，室温下避光孵育 3-8 min；对于活细胞或培养的组织，于 37°C 避光孵育 20-30 min。
- (5) 孵育完成后，吸除染色液，加入 PBS 洗涤细胞 2-3 次，每次 3 min。
- (6) 在载玻片上滴加适量抗荧光淬灭液，将有细胞的那面爬片贴合抗荧光淬灭液并放置其上，在爬片周围滴加封片液以封片。
- (7) 在荧光显微镜下观察并拍照记录。Ex=350 nm, Em=461 nm 左右。

### 2. 悬浮细胞染色

- (1) 以 600×g、4°C 离心 5 min 收集悬浮细胞，弃上清。加入 PBS 重悬细胞，以 600×g、4°C 离心 5 min，弃上清。用 PBS 重复洗涤细胞 0-2 次。
- (2) (可选) 加入 4% 多聚甲醛，室温固定 10 min。吸除固定液，PBS 洗涤 3 次，每次 3 min。
- (3) (可选) 若需要免疫荧光染色，则先进行免疫荧光染色，再进行 Hoechst 33342 染色。若不需其它染色，则直接进行 Hoechst 33342 染色。
- (4) 加入适量 Hoechst 33342 染色工作液重悬细胞，对于固定的组织和细胞，室温下避光孵育 3-8 min；对于活细胞或培养的组织，于 37°C 避光孵育 20-30 min。孵育完成后，吸除染色液。
- (5) 加入 PBS 重悬细胞，以 600×g、4°C 离心 5 min，弃上清。重复此步骤 1-2 次。
- (6) 加入 PBS 重悬细胞，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=350 nm, Em=461 nm 左右。

## 储存条件

-20°C 避光保存，一年有效。

## 注意事项

1. Hoechst 33342 属于荧光染料，光照易导致荧光淬灭，操作过程应注意避光，染色完成后应尽快检测实验结果。
2. 由于样本类型和实验环境的不同均会影响染色效率，建议通过预实验来优化 Hoechst 33342 工作液浓度和染色时间。
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。

