

Hoechst 33258 *超级纯*使用说明书

产品描述：

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，在嵌入双链 DNA 后释放强烈的蓝色荧光。Hoechst 33258 为特异性 DNA 染料，与 A-T 键结合，这种染料对死细胞或经 70%冷乙醇固定的细胞可立即染色。而活细胞的着色是渐进性的，在 10min 内可达饱和。在荧光显微镜下，活细胞核呈弥散均匀荧光，出现细胞凋亡时，细胞核或细胞质内可见浓染致密的颗粒块状荧光。Hoechst 33258 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，也可以用于普通的细胞核和线粒体的显像观察。

Hoechst 经常用来代替其它核酸染料如 DAPI，这两种染料关键的不同点在于，与 DAPI 相比，Hoechst 33258 具有更强的亲脂性，因此能更好的透过完整的细胞膜。用于细胞核染色时，推荐的 Hoechst 33258 工作浓度为 0.5-10 μ g/ml。

技术参数：

光学性质：Ex(nm)：352 Em(nm)：461

化学参数：分子量：533.88 溶剂：Water CAS：23491-45-4

使用方法：

1.缓冲液制备。用 PBS 或合适的缓冲液制备 10 ~ 50 μ M Hoechst 33258 染色液。

2.固定的细胞或组织染色。对于固定的细胞或组织样品，固定后，适当洗涤去除固定剂。依次按步骤进行免疫荧光染色，和 Hoechst33258 染色。如果不进行免疫荧光染色，则直接按步骤进行 Hoechst33258 染色。

a)对于贴壁细胞或组织切片：加入适量 Hoechst 33258 染色液，覆盖住样品即可。对于悬浮细胞：至少加入待测染色样品体积 3 倍的染色液，混匀。室温放置 3-5 分钟。

b)吸除 Hoechst 33258 染色液，用 TBST、PBS 或生理盐水洗涤 2-3 次，每次 3-5 分钟。

c)直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。激发波长 350nm，发射波长 460nm。

3.活细胞或组织染色

a)细胞培养物中加入适量 Hoechst 33258 染色液，约 1/10 细胞培养基体积，必须充分覆盖住待染色的样品。通常对于六孔板一个孔需加入 1ml 染色液，对于 96 孔板一个孔需加入 100 μ l 染色液。

b)在 37 $^{\circ}$ C 培养细胞 10~20 分钟。

c)用 PBS 或合适的缓冲液洗细胞两次。

d)直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。激发波长 350nm，发射波长 460nm。。

运输与保存方法：

冰袋 (wet ice) 运输。-20 $^{\circ}$ C 干燥避光保存，保质期 12 个月。

注意事项

1. Hoechst 33258 溶于水，溶解度可达 20 μ M(约 10mg/ml)。您也可直接购买 20 μ M 的液体规格产品（货号:C5480L1100）。
2. Hoechst 33258 对人体有一定刺激性，请注意适当防护。
3. 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。
4. 为减缓荧光淬灭可以使用抗荧光淬灭封片液。