

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01142

产品介绍

Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色), 也称 bis Benzimide H 33258 或 HOE 33258, 是一种非嵌入性的亮蓝色荧光染料。染料在溶液中荧光较弱, 它们在活细胞中 DNA 聚 AT 序列富集区域的小沟处与 DNA 结合后荧光变得明亮, 所以此类染料也被称为 DNA 探针。因为背景低且染色非常稳定, 对活细胞无毒, 所以染色细胞不需洗涤步骤, 结合 DNA 染色后可持续几天或更长时间。Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 与 Hoechst 33342 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 相比在水中的溶解度要高, 但两种染料均具有高细胞膜渗透性, 被广泛用于细胞凋亡检测, 染色后可用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。

以贴壁细胞 (96 孔板) 举例, 每孔 100 μ L 染色工作液, 染色工作液浓度 5 μ g/mL 计算, 10 mg 配置为工作液大概可以用于 20000 个孔的染色。

应用范围

核酸染色

储运条件

-20 $^{\circ}$ C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

产品特点

稳定性强: 荧光亮度强且染料与 DNA 结合后发光稳定, 持续时间长;

使用方便: 可与我司其他产品搭配使用, 方便灵活;

细胞毒性低: 对活细胞无毒。

产品参数

外观: 白色/黄色/淡黄色固体

Ex/Em: 352/461 nm (结合 DNA)

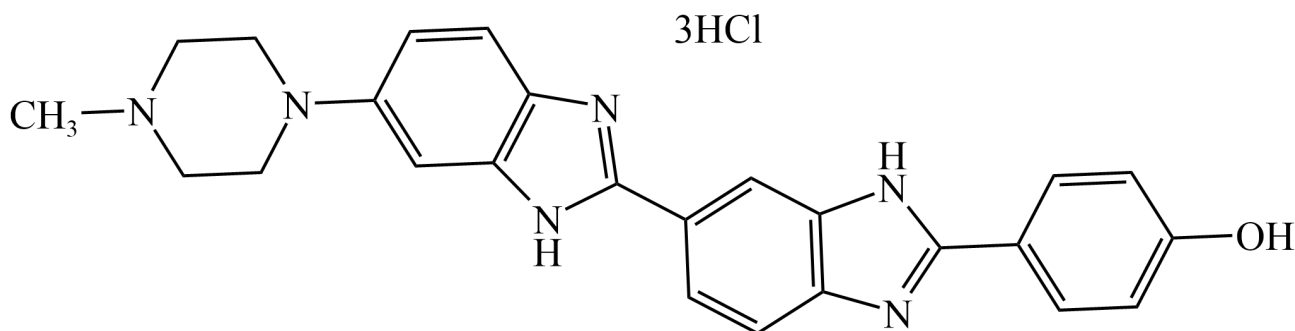
Ex/Em: 346/460 nm (未结合 DNA)

CAS 号: 23491-45-4

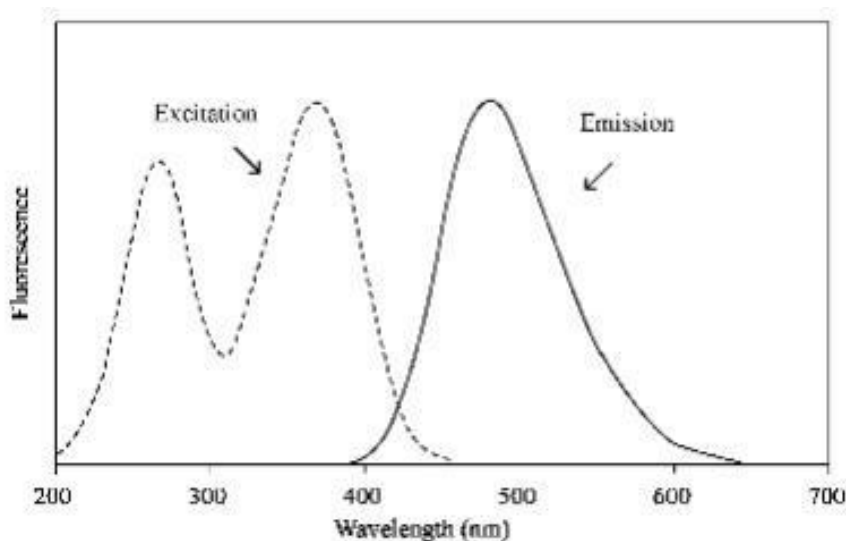
分子式: $C_{25}H_{24}N_6O \cdot 3HCl$

分子量: 533.9

分子结构图:



光谱图:



注意事项

- 1.使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
- 2.Hoechst 染料通常用于染色哺乳动物细胞, 但是也可以用来染色死活细菌, 染色死活细菌时推荐在 PBS 或 150 mM 的 NaCl 中溶解为终浓度 12~15 $\mu\text{g/mL}$ 的染色液室温染色 30 min。对酵母的染色较弱。通常对于死细胞的染色要比活细胞染色亮度高。
- 3.Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 染料溶于水时溶解度可达 10 mg/mL, 用于细胞核染色时, 推荐的 Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 工作浓度为 0.5~10 $\mu\text{g/mL}$, 客户可根据实际染色情况对染色液浓度及染色时间进行调整。
- 4.荧光染料都存在淬灭的问题, 建议活细胞或组织染色后立即观察。
- 5.本产品仅限于科研, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 6.为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

1.工作液配置

- (1) 向 EP 管中加入 1 mL ddH₂O 配置 10 mg/mL 储液。
- (2) 用 PBS 按照 1: 2000 稀释 Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 储液至终浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 的工作液。

2.染色

(1) 对于固定的细胞或组织

- 1)对于细胞或组织样品, 固定后适当洗涤去除固定剂。如需免疫荧光染色, 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 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 染色。
- 2) 对于贴壁细胞或组织切片, 加入少量 Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 工作液, 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 min。
- 3) 吸除 Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 染色液, 用 TBST、PBS 或生理盐水洗涤 2~3 次, 每次 3~5 min。

注: 清洗步骤可选但不是必需的, 清洗后不影响染色。

- 4) 直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。细胞发生凋亡时, 会看到凋亡细胞的细胞核呈致密浓染, 或呈碎块状致密浓染。

(2) 对于活细胞或组织

- 1) 加入适量 Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料 (蓝色) 工作液, 充分覆盖待染色的样品, 通常对于六孔板每孔需加入 1 mL 的染色液, 对于 96 孔板每孔需加入 100 μL 的染色液。
- 2) 室温避光孵育 10~30 min。
- 3) 弃染色液, 用 PBS 洗涤 2~3 次后添加 50 μL PBS 进行显微拍照。

注: 清洗步骤可选但不是必需的, 清洗后不影响染色。