

# 产品说明书

## Hoechst 33258 活细胞 DNA 染料

产品货号: H4046

产品规格: 10 mg

应用范围: 核酸染色

### 产品参数

外观: 白色/黄色/淡黄色固体

Ex/Em (结合 DNA) = 352/461 nm

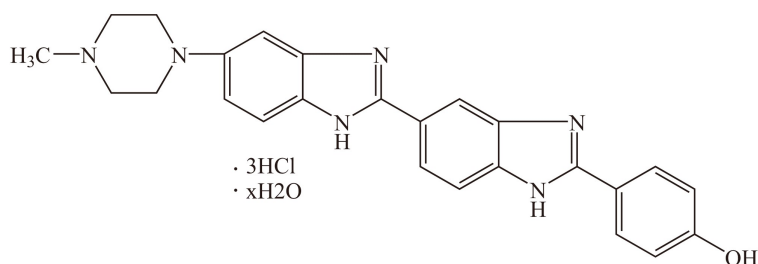
Ex/Em (未结合 DNA) = 346/460 nm

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:



### 储存条件

-20°C避光保存, 有效期见外包装。

### 产品介绍

Hoechst 33258, 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, 故此类染料也被称为 DNA 探针。因背景较低, 故染色细胞不需洗涤步骤, 且染色非常稳定, 对活细胞无毒, 结合 DNA 染色后可持续几天或更长时间。Hoechst 33258 与 Hoechst 33342 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  $\mu$ L 染色工作液, 染色工作液浓度 5  $\mu$ g/mL 计算, 10 mg 配置为工作液大概可以用于 20000 个孔的染色。



## 实验步骤

### 1. 工作液配置

- (1) 向 EP 管中加入 1 mL ddH<sub>2</sub>O 配置 10 mg/mL 储液。
- (2) 用 PBS 按照 1 : 2000 稀释 Hoechst 33258 储液至终浓度为 5 μg/mL 的工作液。

### 2. 染色

- (1) 对于固定的细胞或组织
  - a. 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 染色。
  - b. 对于贴壁细胞或组织切片，加入少量 Hoechst 33258 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。
  - c. 吸除 Hoechst 33258 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须的，清洗后不影响染色。

  - d. 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

- a. 加入适量 Hoechst 33258 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。
- b. 室温避光孵育 10-30 min。
- c. 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须的，清洗后不影响染色。

## 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 μg/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 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 工作浓度为 0.5-10 μg/mL，客户可根据实际染色情况对染色液浓度及染色时间上下摸索。
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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

