

产品说明书

Hoechst 33258 染色液（即用型）

产品货号：H4078

产品规格：10 mL

应用范围：核酸染色

产品参数

Ex/Em（结合 DNA）= 352/461 nm

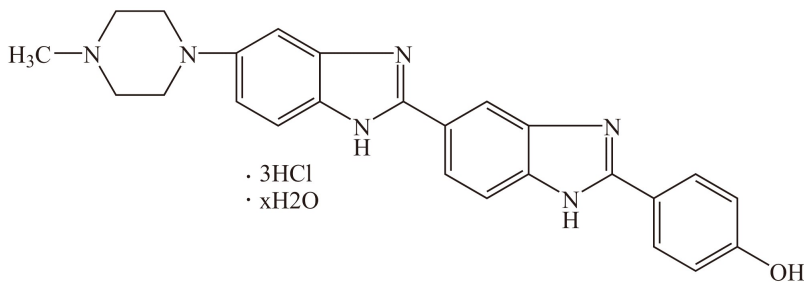
Ex/Em（未结合 DNA）= 346/460 nm

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 Benzimidazole 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 μ L 染色液，10 mL 可以用于 100 个孔的染色。

实验步骤

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 染色。

(2) 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。

(3) 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。

(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 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 μ L 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 μ L 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. 如需调整使用浓度，请选择 H4046，自行配置合适的工作液浓度。
3. 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。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

