

细胞凋亡 Hoechst 检测试剂盒

Cat #:GK3615-50T/GK3615-100T

一、试剂盒组成、规格、储存:

成分	50T	100T	储存
Hoechst 33258 染色液	25ml	50ml	4℃避光保存
固定液	25ml	50ml	4℃保存
抗荧光淬灭封片液	2.5ml	5ml	4℃保存

二、产品简介:

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。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。Hoechst 33258 的最大激发波长为 346nm,最大发射波长为 460nm; Hoechst 33258 和双链 DNA 结合后,最大激发波长为 352nm,最大发射波长为 461nm。

细胞发生凋亡时,染色质会固缩。所以 Hoechst 33258 染色后,在荧光显微镜下观察,正常细胞的细胞核呈正常的蓝色,而凋亡细胞的细胞核会呈致密浓染,或呈碎块状致密浓染,颜色有些发白。

三、产品特点:

- 1、简单快速。
- 2、提供了固定液,染色液,及抗荧光淬灭封片液。
- 3、对贴壁细胞,悬浮细胞和组织切片均适用。

四、自备试剂及仪器

可以观察蓝色荧光的荧光显微镜或激光共聚焦显微镜、PBS 或 0.9% NaCl 溶液、低速离心机、移液器、1.5mL 离心管、载玻片、盖玻片。

五、储存条件

- 1、4℃保存, Hoechst 33258 染色液需避光保存。
- 3、一年有效。

六、使用方法 (仅供参考):

1、贴壁细胞

- 1) 取洁净盖玻片在 70%乙醇中浸泡 5 分钟或更长时间, 无菌超净台内吹干或用无菌的 PBS 或 0.9%NaCl 等溶液洗涤三遍,再用细胞培养液洗涤一遍。将盖玻片置于六孔板内, 种入细胞培养过夜, 使约为 50%-80%满。
- 2) 刺激细胞发生凋亡后, 吸尽培养液, 加入 0.5ml 固定液, 固定 10 分钟或更长时间(可 4℃ 过夜)。
- 3) 去除固定液, 用 PBS 或 0.9% NaCl 洗两遍, 每次 3 分钟, 吸尽液体。洗涤时宜用摇床, 或手动晃动。
- 4) 加入 0.5ml Hoechst 33258 染色液, 染色 5 分钟。用摇床, 或手动晃动数次。
- 5) 去除染色液, 用 PBS 或 0.9% NaCl 洗两遍, 每次 3 分钟, 吸尽液体。洗涤时宜用摇床, 或手动晃动。
- 6) 滴一滴抗荧光淬灭封片液于载玻片上, 盖上贴有细胞的盖玻片, 让细胞接触封片液, 尽量避免气泡。
- 7) 荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长 350nm 左右, 发射波长 460nm 左右。

2、悬浮细胞

- 1) 离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内, 加入 0.5ml 固定液, 缓缓悬起细胞, 固定 10 分钟或更长时间(可 4℃ 过夜)。
- 2) 离心去固定液, 用 PBS 或 0.9% NaCl 洗两遍, 每次 3 分钟。洗涤期间手动晃动数次。
- 3) 离心后吸去大部分液体, 保留约 50 μl, 再缓缓悬起细胞, 滴加至载玻片上, 尽量使细胞分布均匀。
- 4) 稍晾干, 使细胞贴在载玻片上不易随液体流动。
- 5) 均匀滴加 0.5ml Hoechst 33258 染色液, 染色 5 分钟。用吸水纸从边缘吸去液体, 微晾干。
- 6) 去染色液, 用 PBS 或 0.9% NaCl 洗两遍, 每次 3 分钟, 吸尽液体。洗涤时宜用摇床, 或手动晃动。
- 7) 滴一滴抗荧光淬灭封片液于载玻片上, 盖上一洁净的盖玻片, 尽量避免气泡。
- 8) 荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长 350nm 左右, 发射波长 460nm 左右。

3、组织切片

- 1) 常规包埋切片后，根据切片的不同类型，处理至可以用于免疫组化染色。
- 2) PBS 或 0.9% NaCl 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时用摇床，或手动晃动。可在六孔板中操作。
- 3) 加入 0.5ml Hoechst 33258 染色液，染色 5 分钟。用摇床，或手动晃动数次。
- 4) 去染色液，用 PBS 或 0.9% NaCl 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时用摇床，或手动晃动。
- 5) 小心将切片置于载玻片上，滴一滴抗淬灭封片液，盖上一洁净的盖玻片，尽量避免气泡。
- 6) 荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长 350nm 左右，发射波长 460nm 左右。

七、注意事项

- 1、荧光物质均易发生淬灭，染色后的样品宜避光保存。
- 2、在使用抗淬灭封片液的情况下可以减缓淬灭，但仍宜尽量避光。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

附：细胞培养常用试剂

编号	名称	规格
GR3101-500ML	1640 medium 培养液	500ml
GD3103-500ML	DMEM,high glucose 高糖培养液	500ml
GH3106-500ML	D-Hank' s 液(不含 Ca^{2+} Mg^{2+} 含酚红)	500ml
GH3116-500ML	D-Hank' s 液(不含 Ca^{2+} Mg^{2+} 不含酚红)	500ml
GH3107-500ML	Hank' s 液(含 Ca^{2+} Mg^{2+} 含酚红)	500ml
GH3117-500ML	Hank' s 液(含 Ca^{2+} Mg^{2+} 不含酚红)	500ml
GP3108-100ML	0.25%胰蛋白酶消化液（含 EDTA）	100ml
GP3109-100ML	0.25%胰蛋白酶消化液（不含 EDTA）	100ml
GA3502-100ML	青链霉素混合液（100×）	100ml
GP3302-500ML	D-PBS	500ml
GS3303-100ML	碳酸氢钠溶液	100ml
GC3305-50ML	细胞冻存液	50ml
GK3601-50T	细胞凋亡与周期检测试剂盒（单染）	50T
GK3602-100T	细胞凋亡- Hoechst 33342/PI 检测试剂盒（双染）	100T
GK3603-50T	细胞凋亡-Annexin V-FITC/PI 检测试剂盒（双染）	50T
GK3605-500T	MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500T
GK3607-500T	CCK-8 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒	500T
GK3610	JC-1 线粒体膜点位检测试剂盒	>100T
GK3611	活性氧检测试剂盒（DCFH-DA）	>100T
GK3612-100T	支原体检测试剂盒（荧光法）	100T
GK3614	支原体清除剂	1ml
GK3615-100T	细胞凋亡 Hoechst 检测试剂盒	100T