

细胞凋亡-Hoechst 染色试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

产品简介：

细胞凋亡-Hoechst 染色试剂盒(Hoechst Staining Kit) 是一种采用经典的 Hoechst33258 进行细胞凋亡检测的快速简便的试剂盒。当细胞发生凋亡时，染色质会固缩，Hoechst33258 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。

Hoechst Staining Kit 经常用于培养的贴壁或悬浮细胞以及组织切片的细胞凋亡检测。该试剂盒检测细胞含量范围一般为 $0.1 \sim 1 \times 10^6$ 之间。

产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
细胞凋亡-Hoechst 染色试剂盒	100T	4℃	1 份	1 年
试剂(A): Hoechst 固定液	50ml	RT	1 份	1 年
试剂(B): Hoechst 染色液	50ml	-20℃ 避光	1 份	1 年
试剂(C): 荧光封片剂	5ml	4℃ 避光	1 份	1 年

自备材料：

- 1、可观察蓝光的荧光显微镜或激光共聚焦显微镜
- 2、PBS 或生理盐水
- 3、载玻片、盖玻片
- 4、预冷固定液：预冷的 70%乙醇或 4%多聚甲醛

操作步骤(仅供参考)：

(一)贴壁细胞

- 1、取洁净盖玻片在 70%乙醇中浸泡 5min 或更长时间，无菌超净台内吹干或用无菌的 PBS 或生理盐水洗涤 3 次，再用细胞培养液洗涤 1 次。将盖玻片置于 6 孔板或其他培养皿内，接种细胞培养过夜，使融合率约为 50%~80%。
- 2、加入干预条件使细胞发生凋亡后，吸尽培养液，加入 Hoechst 固定液 0.5ml，固定 10min 或更长时间(可 4℃过夜)。
- 3、去除固定液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体。洗涤时宜用摇床，或手动晃动。
- 4、加入 Hoechst 染色液 0.5ml，孵育 5min(也可用摇床或手动晃动数次)。
- 5、弃染色液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动晃动。

6、滴一滴抗荧封片剂于载玻片上，盖上贴有细胞的盖玻片，让细胞接触封片剂，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。

(二)悬浮细胞

1、离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内并弃液，加入 Hoechst 固定液 0.5ml，缓缓悬起细胞，固定 10min 或更长时间(亦可 4℃过夜)。

2、低速离心去除固定液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min。洗涤时手动晃动数次。

3、低速离心离心后吸去大部分液体保留约 50 μl 液体，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、滴加 Hoechst 染色液 0.5ml，孵育 5min，用吸水纸从边缘吸去液体，微晾干。

6、弃染色液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体。洗涤时宜用摇床，或手动晃动。

7、滴一滴抗荧光封片剂于载玻片上，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。

(三)组织切片

1、常规包埋切片。

2、用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min。洗涤时手动晃动数次。

3、均匀滴上 Hoechst 染色液 0.5ml，孵育 5 分钟。

4、弃染色液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动晃动。

7、将切片置于载玻片上，滴一滴抗荧光封片剂，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。

注意事项：

1、荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。使用抗荧封片剂时也应避光操作。

2、在为了获得细胞沉淀的离心的过程中，对于特殊细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当提高离心力或延长离心时间。

3、Hoechst 染色液对人体有一定刺激性，请注意适当防护。

4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关产品：

pH 标准缓冲溶液 (pH=4.00)
MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
Masson 三色染色液
Hoechst33342/PI 细胞凋亡染色试剂盒