



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@vip.163.com

Hoechst 33342 活细胞染色液（100×）

Hoechst 33342 Staining Solution for Live Cells(100×)

● 产品组成:

货号	名称	规格
HE1014S	Hoechst 33342 活细胞染色液(100×)	0.5 ml
	说明书	一份

● 产品简介:

Hoechst 33342, 也称 bisBenzimide H 33342 或 HOE 33342, 分子式为 $C_{27}H_{28}N_6O \cdot 3HCl$, 分子量 MW561.93, CAS: 23491-52-3, 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 33342 专一性地与双链 DNA 结合 (优先结合 AT), 常用于细胞核染色。染色后可以用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。Hoechst 33342 的最大激发波长为 346 nm (紫外激发), 最大发射波长为 460nm (蓝色荧光); Hoechst 33342 和双链 DNA 结合后, 最大激发波长为 350nm, 最大发射波长为 461nm。另外, 由于 Hoechst 33342 专一性结合 DNA, 不与 RNA 结合, 样品无需使用 RNase 处理。与 DAPI 相比, Hoechst 33342 具有更好的膜通透性, 更适合于活细胞的染色。

Hoechst 33342 和 Hoechst 33258 相比, Hoechst 33342 对细胞的毒性作用更小一些, 33258 穿透能力较 33342 弱, 染活细胞时容易被“泵出”, 也就是拒染。所以一般来说 Hoechst 33258 用于细胞固定后再染色, 而 Hoechst33342 则可以对活细胞直接进行染色。

本染色液为 100×浓度, 使用终浓度为 1×, 可直接用于活细胞或组织的细胞核染色, 也可稀释后用于固定细胞或组织的细胞核染色。

● 贮存:

-20℃避光保存, 一年有效。

● 操作步骤:

一. 活细胞染色:

1.1 贴壁细胞:

1.1.1 在培养液中均匀滴加适量的 Hoechst 33342 活细胞染色液(100×)至终浓度为 1×, 轻柔混匀。

例如对于十二孔板中培养的贴壁细胞, 每孔有 1 ml 的培养液, 每孔需要加入 10 μ l Hoechst 33342 活细胞染色液(100×)。培养液中的血清、酚红等都不会对染色产生干扰。

1.1.2 在适宜于细胞培养的温度孵育 10 分钟, 可以直接在荧光显微镜下观察。如果考虑到培养液对观察效果的影响, 进行以下操作步骤。

1.1.3 吸除含染料的培养液, 用 PBS 洗涤 2-3 次即可在荧光显微镜下观察。

注: 为避免凋亡细胞随培养液或 PBS 被吸除, 在吸除液体前, 对于用多孔板中培养的细胞, 最好用多孔板离心机离心一下以充分沉淀那些已经漂浮起来的凋亡细胞。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。

1.2. 悬浮细胞:

1.2.1 在悬浮细胞培养液中加入适量的 Hoechst 33342 活细胞染色液(100×)至终浓度为 1×, 轻

柔混匀。例如对于 12 孔板中培养的贴壁细胞，每孔有 1 ml 的培养液，每孔需要加入 10 μ l Hoechst 33342 活细胞染色液(100 \times)。培养液中的血清、酚红等都不会对染色产生干扰。

1.2.2 在适宜于细胞培养的温度孵育 10 分钟，可以直接在荧光显微镜下观察。如果考虑到培养液对观察效果的影响，进行以下操作步骤。

1.2.3 将细胞转移到 1.5 ml 离心管中，500 g 离心 5 分钟收集细胞。细胞沉淀用 PBS 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。

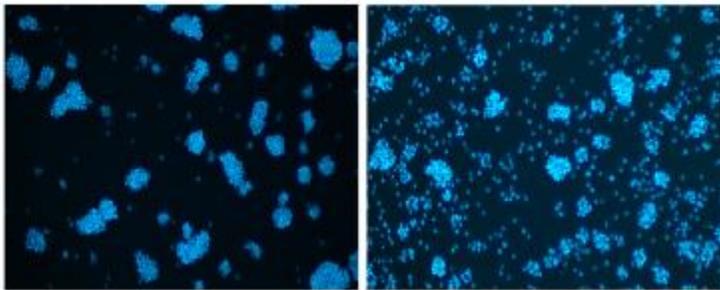
1.2.4 细胞沉淀中加入 100-200 μ l PBS，重悬沉淀。

1.2.6 取 5 μ l 抗荧光淬灭封片液于载玻片上，加入等体积步骤 1.2.4 染色后细胞重悬液，盖上一洁净的盖玻片，尽量避免气泡。

1.2.6 荧光显微镜使用紫外激发，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。

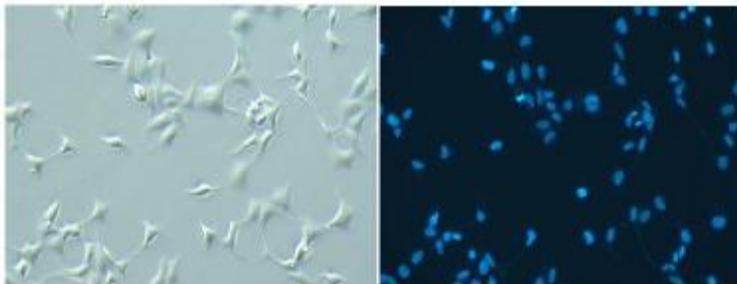
注：荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。

二. 实验示例：



染色程序：

Jurkat 细胞密度调整到 1×10^6 /ml，六孔板接种 2 ml，加入 10 μ l STS（星孢菌素）至终浓度 1 μ M 37 度培养 3 小时；加入 20 μ l Hoechst 33342 活细胞染色液（100 \times ），RT 避光染色 15 分钟，荧光显微镜直接观察。左图为正常细胞（10 \times ），右图为 STS 诱导凋亡的细胞（10 \times ）。



染色程序：

左为明场 20 \times 相差；右为紫外激发

293 细胞消化后调整密度为 1×10^5 /ml；12 孔板，每孔接种 1 ml，37 度培养 30 小时；加入 10 μ l Hoechst 33342 活细胞染色液（100 \times ）；37 度培养 10 分钟，直接观察。