



细胞凋亡检测试剂盒 (Hoechst 法)

Cell Apoptosis Analysis Kit (Hoechst staining)

包装清单

| Cat No. | 组分 | 包装规格-100T |
|----------|---|-----------|
| MCK-0012 | 固定液 (Fixative Solution) | 50mL |
| | Hoechst 33258 染色液 (Hoechst 33258 Stain) | 50mL |
| | 抗荧光淬灭封片液 (Antifade Mounting Medium) | 5mL |
| | 说明书 | 1 份 |

产品简介

默科的细胞凋亡检测试剂盒 (Hoechst 法)采用 Hoechst 33258 染色的方法快速检测细胞凋亡。

Hoechst 33258 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料。细胞凋亡时, 细胞膜通透性增强, 染色质发生固缩, 且凋亡细胞膜上的 p-糖蛋白泵功能受损而不能及时将 Hoechst 33258 排出细胞, 故凋亡细胞经 Hoechst 33258 染色后荧光强度比正常细胞明显增强。使用荧光显微镜检测时, 正常细胞为弱蓝色荧光, 凋亡细胞为强蓝色荧光。

本试剂盒常用于贴壁细胞、悬浮细胞及组织切片的细胞凋亡检测, 染色快速方便, 最快仅需 25 分钟即可完成。

保存条件

4°C 避光保存, 有效期六个月。

-20°C 避光保存, 有效期一年。

注意事项

1. 荧光染料存在淬灭的问题, 染色后应尽快检测荧光强度。
2. Hoechst 33258 对光敏感, 整个实验过程尽量避光下进行。
3. Hoechst 33258 对人体有害, 操作时务必小心。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

贴壁细胞

1. 取一洁净盖玻片, 用 70%乙醇浸泡 5 min, 无菌超净台中吹干备用。
注: 也可将盖玻片用无菌 PBS 或 0.9% NaCl 洗涤三次, 再用细胞培养液洗涤一次后备用。
2. 将盖玻片置于六孔板, 接种细胞, 培养至细胞密度约 50-80%。
3. 刺激细胞发生凋亡。弃去培养液, 加入 0.5 mL Fixative Solution, 室温固定 10 min 以上。
注: 4°C 固定过夜效果更加。
4. 弃去 Fixative Solution, 加入 PBS 或 0.9%NaCl 洗涤两次, 每次 3min。
5. 加入 0.5mL Hoechst33258 Stain, 染色 5min。
6. 弃去染色液, 用 PBS 或 0.9%NaCl 洗涤两次, 每次 3min。
7. 在载玻片上加一滴 Antifade Mounting Medium, 小心盖上贴有细胞的盖玻片。注意避免产生气泡。
8. 荧光显微镜下检测荧光强度。

注: Hoechst33258 和双链 DNA 结合后, 最大激发波长为 352 nm, 最大发射波长为 461 nm。

悬浮细胞

1. 4°C, 1000 g 离心 3-5 min, 收集 10^5 - 10^6 细胞。
2. 加入 0.5 mL Fixative Solution, 室温固定 10 min 以上。
注: 4°C 固定过夜效果更佳。
3. 4°C, 1000 g 离心 3-5 min, 弃去 Fixative Solution, 加入 PBS 或 0.9% NaCl 洗涤两次, 每次 3 min。
4. 加入约 50 μ L PBS 或 0.9% NaCl 轻轻重悬细胞沉淀, 并滴加至载玻片上。
5. 室温下晾干至细胞不会轻易随液体流动。
6. 加 0.5 mL Hoechst 33258 Stain, 染色 5 min。
7. 弃去染色液, 用 PBS 或 0.9% NaCl 洗涤两次, 每次 3 min。



8.在载玻片上加一滴 Antifade Mounting Medium，小心盖上盖玻片。注意避免产生气泡。

9.荧光显微镜下检测荧光强度。

注：Hoechst 33258 和双链 DNA 结合后，最大激发波长为 352 nm，最大发射波长为 461nm。

组织切片

1.常规包埋切片后，将切片处理至可用于免疫组化染色。

2.加入 PBS 或 0.9% NaCl 洗涤两次，每次 3min。

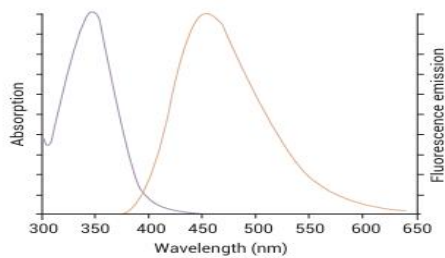
3.加入 0.5 mL Hoechst 33258 Stain，染色 5 min。

4.弃去染色液，用 PBS 或 0.9% NaCl 洗涤两次，每次 3 min。

5.小心将切片置于载玻片上，加一滴 Antifade Mounting Medium，小心盖上盖玻片。注意避免产生气泡。

6.荧光显微镜下检测荧光强度。

注：Hoechst 33258 和双链 DNA 结合后，最大激发波长为 352 nm，最大发射波长为 461 nm。



图：Hoechst 33258 吸收光谱和发射光谱

注：左侧为吸收光谱，右侧为发射光谱