

## 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  $\mu$ 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。



默科南京

Hotline: 025-69867707

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 461 nm。

#### 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 3 min。

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。

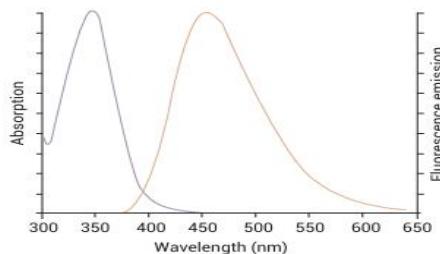


图: Hoechst 33258 吸收光谱和发射光谱

注: 左侧为吸收光谱, 右侧为发射光谱