

VisiColor Hoechst 33258 染色液（即用型）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8252	VisiColor Hoechst 33258 Staining Solution (Ready-to-use)	10ml/10ml×10 瓶
	使用说明书	1 份

【保存条件】

-20°C避光保存，有效期 12 个月

【概述】

Hoechst 33258 是一种可穿透细胞膜的蓝色荧光染料，对细胞毒性较低。它特异性地结合双链 DNA 的 AT 富集区域，产生明亮的蓝色荧光。本品为进口原料配制，成像与稳定效果更佳。

核心应用：细胞凋亡检测（凋亡细胞核呈致密浓染或碎块状）、普通细胞核染色、DNA 定量检测。

光谱特性：最大激发波长为 352 nm，最大发射波长为 461 nm（结合 DNA 后）。

适用范围：兼容固定后的细胞/组织，也兼容活细胞/活组织。

【使用方法】

使用前请将本品置于室温避光解冻，并充分摇匀。

1. 固定细胞或组织样本（终点检测）

① **准备：**使用固定液（如 ES-8100 4%组织/细胞固定液）固定样品后，用 PBS 洗涤 1-2 次去除残留固定剂。若需进行免疫荧光（IF），请先完成 IF 染色，最后进行 Hoechst 染色。

② **染色：**

贴壁细胞/切片：吸除 PBS，直接加入适量染色液完全覆盖样品。

悬浮细胞：离心收集细胞沉淀（约 300×g），弃上清。加入 3-5 倍沉淀体积的染色液，轻轻吹打重悬细胞。

③ **孵育：**室温放置 3-5 分钟。

④ **洗涤：**离心（约 300×g）收集细胞并弃去染液，用 PBS 洗涤 2-3 次，每次 3-5 分钟。

⑤ **观察：**直接镜检或使用 ES-8312 抗荧光淬灭封片剂封片后观察。

2. 活细胞或培养组织（动态/活性检测）

① 加样方式:

方案 A (直接加入法): 推荐用于凋亡检测。不弃去旧培养基, 直接按 1:1 比例加入染色液 (如 1mL 培养液加 1mL 染液)。此法可最大程度保留漂浮的凋亡细胞, 减少换液应激。

方案 B (换液覆盖法): 推荐用于高分辨率拍照。弃去培养基, 用 PBS 轻轻洗涤一次, 加入足量染色液覆盖细胞。

② 孵育: 在细胞培养箱 (37°C) 或室温下孵育 20–30 分钟。

③ 洗涤: 弃染色液, 用 PBS 洗涤 2-3 次。

④ 检测: 荧光显微镜下观察。凋亡细胞可见核浓缩、碎裂及强烈的蓝色荧光。

【选型参考: Hoechst 33342 与 33258 如何选择?】

活细胞染色: 首选 Hoechst 33342。其独特的亲脂性结构确保了极高的膜渗透速率, 是动态观察和活体成像的最佳选择。

固定样本: 两者均可。若追求极致性价比, 固定样本推荐使用 Hoechst 33258。

流式检测: 涉及 SP 细胞分选或精确的细胞周期分析时, 推荐使用 Hoechst 33342。

【注意事项】

- 1. 淬灭预防:** 荧光染料均存在淬灭风险, 操作过程中应严格避光, 建议染色后当天完成检测。
- 2. 如果您做的是活细胞动力学研究:** 推荐使用 ES-8256 VisiColor Hoechst 33342 活细胞染色液 (即用型)。其更强的亲脂性确保了更短的孵育时间和更均匀的活细胞核染色。
- 3. 背景优化:** 培养基中的酚红和血清蛋白可能产生轻微背景干扰。若背景过深, 建议洗涤后更换为 PBS 或无酚红培养基进行观察。
- 4. 安全防护:** 操作时请务必穿着实验服并佩戴一次性手套。仅供科学研究, 严禁用于临床医疗、食品或动物治疗。