

VisiColor Hoechst 33342 活细胞染色液（即用型）使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8256	VisiColor Hoechst 33342 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1年。

【概述】

Hoechst 33342 是一种高度亲脂性的蓝色荧光染料。与 Hoechst 33258 相比，它具有更强的细胞膜穿透能力。

核心优势：活细胞染色的首选。能极快地穿透完整细胞膜，对活细胞毒性极低，适合长时间动态观察。

应用：活细胞显微成像、流式细胞术（细胞周期分析、SP 细胞分选）、凋亡检测。

光谱：最大激发波长 350nm，最大发射波长 461nm（结合 DNA 后）。

【使用方法】

使用前请将本品置于室温避光自然解冻，并充分摇匀。

1. 活细胞或培养组织（首选应用）

由于 Hoechst 33342 渗透力极强，孵育时间可较 Hoechst 33258 适当缩短。

① 加样方式：

方案 A（直接法）：在现有培养基中按 1:1 比例加入染色液。此法对细胞干扰最小，适合观察活细胞自然状态。

方案 B（换液法）：弃培养基，PBS 洗涤一次，加入足量染色液覆盖细胞。此法荧光信号最纯净。

② **孵育：**在细胞培养箱（37°C）或室温下孵育 10–20 分钟。

③ **洗涤：**弃去染色液，用 PBS 洗涤 1-2 次。

④ **检测：**荧光显微镜下观察或流式细胞仪检测。

2. 固定细胞或组织样本

⑤ **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。

⑥ 染色：

贴壁细胞/切片：吸除 PBS，加入适量染色液覆盖样品。

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重悬。

⑦ 孵育：室温避光放置 3-5 分钟。

⑧ 洗涤：吸除（或离心弃去）染液，用 PBS 洗涤 1-2 次。

⑨ 观察：直接镜检或使用 ES-8312 抗荧光淬灭封片剂封片后观察。

【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. 避光防淬灭：**荧光染料操作需严格避光。建议配合使用 ES-8312 抗荧光淬灭封片剂。
- 2. 背景干扰：**培养基中的酚红可能吸收紫外激发光。如背景过深，请洗涤后更换为无酚红培养基或 PBS。
- 3. 浓度控制：**若用于极敏感细胞出现过染，可用 PBS 进一步稀释使用。
- 4. 安全防护：**操作请佩戴手套。仅供科研使用，严禁临床应用。

【参考文献】

1. Targeting a therapeutic LIF transgene to muscle via the immune system ameliorates muscular dystrophy. Steven S Welc et al. Nature communications, 10(1), 2788-2788 (2019)
2. The transforming activity of Wnt effectors correlates with their ability to induce the accumulation of mammary progenitor cells. Liu BY, et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 101, 4158-4163 (2004)