



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 细胞凋亡-Hoechst 染色试剂盒

### 简介:

细胞凋亡-Hoechst 染色试剂盒(Hoechst Staining Kit)是一种采用经典的Hoechst33258进行细胞凋亡检测的快速简便的试剂盒,当细胞发生凋亡时染色质会固缩,Hoechst33258染色后在荧光显微镜下观察,正常细胞的细胞核呈正常的蓝色,而凋亡细胞的细胞核会呈致密浓染或呈碎块状致密浓染,颜色有些发白。

源叶生物 Hoechst Staining Kit 经常用于培养的贴壁或悬浮细胞以及组织切片的细胞凋亡检测,该试剂盒检测细胞含量范围一般为  $0.1 \sim 1 \times 10^6$  之间。该试剂盒仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称 \ 编号	R20289 100T	Storage
试剂(A): Hoechst 固定液	50ml	RT
试剂(B): Hoechst 染色液	50ml	-20℃ 避光
试剂(C): 荧光封片剂	5ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

### 自备材料:

- 1、可观察蓝光的荧光显微镜或激光共聚焦显微镜
- 2、PBS 或生理盐水
- 3、载玻片、盖玻片
- 4、预冷固定液: 预冷的 70%乙醇或 4%多聚甲醛

### 操作步骤(仅供参考):

## (一)贴壁细胞

1、取洁净盖玻片在 70%乙醇中浸泡 5min 或更长时间, 无菌超净台内吹干或用无菌的 PBS 或生理盐水洗涤 3 次, 再用细胞培养液洗涤 1 次, 将盖玻片置于 6 孔板或其他培养皿内, 接种细胞培养过夜, 使融合率约为 50%~80%。

2、加入干预条件使细胞发生凋亡后, 吸尽培养液, 加入 Hoechst 固定液 0.5ml, 固定 10min 或更长时间(可 4℃过夜)。

3、去除固定液, 用 PBS 或生理盐水洗 2 次, 每次 3min, 吸尽液体, 洗涤时宜用摇床或手动晃动。

4、加入 Hoechst 染色液 0.5ml, 孵育 5min(也可用摇床或手动晃动数次)。

5、弃染色液, 用 PBS 或生理盐水洗 2 次, 每次 3min, 吸尽液体, 洗涤时宜用摇床或手动晃动。

6、滴一滴抗荧封片剂于载玻片上, 盖上贴有细胞的盖玻片, 让细胞接触封片剂, 尽量避免气泡。

7、荧光显微镜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。

## (二)悬浮细胞

1、离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内并弃液, 加入 Hoechst 固定液 0.5ml, 缓缓悬起细胞, 固定 10min 或更长时间(亦可 4℃过夜)。

2、低速离心去除固定液, 用 PBS 或生理盐水洗 2 次, 每次 3min, 洗涤时手动晃动数次。

3、低速离心离心后吸去大部分液体保留约 50μl 液体, 再缓缓悬起细胞, 滴加至载玻片上, 尽量使细胞分布均匀。

4、稍晾干, 使细胞贴在载玻片上不易随液体流动。

5、滴加 Hoechst 染色液 0.5ml, 孵育 5min, 用吸水纸从边缘吸去液体, 微晾干。

6、弃染色液, 用 PBS 或生理盐水洗 2 次, 每次 3min, 吸尽液体, 洗涤时宜用摇床或手动晃动。

7、滴 1 滴抗荧光封片剂于载玻片上, 盖上一洁净的盖玻片, 尽量避免气



泡。

8、荧光显微镜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。

### (三)组织切片

1、常规包埋切片。

2、用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min。洗涤时手动晃动数次。

3、均匀滴上 Hoechst 染色液 0.5ml，孵育 5 分钟。

4、弃染色液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体，洗涤时宜用摇床或手动晃动。

7、将切片置于载玻片上，滴一滴抗荧光封片剂，盖上一洁净的盖玻片，尽量避免气泡。

8、荧光显微镜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。

### 注意事项：

1、荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测，使用抗荧封片剂时也应避光操作。

2、在为了获得细胞沉淀的离心的过程中，对于特殊细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当提高离心力或延长离心时间。

3、Hoechst 染色液对人体有一定刺激性，请注意适当防护。

4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：** 12 个月有效；4℃ 保存，1 个月有效。