



Hoechst 33258

——细胞核复染荧光探针

产品货号	包装规格
C003	10 mg
C004	1 ml, 10 mg/ml

储存条件：-20℃，避光保存。

激发/发射波长：350/461 nm, bound to DNA

产品说明书

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路3号广州国际企业孵化器F区8楼
邮编：510663
电话：4006-020-200
邮箱：sales@igenebio.com
网址：www.genecopoeia.com www.igenebio.com

Hoechst 33258

产品货号: C003/C004

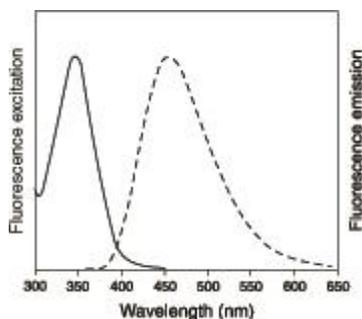
产品介绍

Hoechst 33258 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料，它在嵌入双链 DNA 后释放强烈的蓝色荧光，对细胞的毒性较低。Hoechst 33258 应用广泛，它可以用于琼脂糖凝胶电泳检测 DNA（灵敏度大于 3 ng），亦可应用于全自动 DNA 测定，细胞计数以及染色体分型等。Hoechst 33258 对细胞内 DNA 构象与核染色质形态十分敏感，因而可用于检测细胞核的损伤程度。Hoechst 33258 是流式细胞术中一种检测 DNA 损伤至关重要的染色试剂，可通过实时分析染料发射光谱的变化来达到监测的目的。

Hoechst 33258 是二苯并咪唑的衍生物，可选择性地与 DNA 双链小沟区 AT 序列结合。虽然说它能与所有的核酸结合，但是与富含 AT 的双链 DNA 结合所产生的荧光信号强度可比与富含 GC 的双链 DNA 结合的荧光信号大两倍。利用 Hoechst 33258 这个特点，可以将其应用于染色体 Q 带的识别（Q 带是染色体中富含 AT 的区域，用喹吖因类荧光染料染色后可以发出明亮的荧光）。另外，Hoechst 33258 的水溶性稍强于 Hoechst 33342，但两款染料均可广泛用于活细胞染色。该产品可用于荧光显微镜，微孔板，比色皿（荧光光度计）以及流式细胞仪等的应用。

本产品包装形式为固体（10 mg）和液体（1 ml，10 mg/ml）两种。收到产品之后储存于 -20℃ 并避光保存，至少可稳定保存 1 年。

光谱特征



Hoechst 33258 与双链 DNA 结合的激发、发射光谱图

注意事项

- 为避免反复冻融，建议适当分装。
- 对于微量的液体，每次使用前请先高速离心数秒，使液体充分沉降到管底。
- 荧光染料不可避免的存在淬灭问题，请存放及操作时尽量注意避光，以减缓荧光的淬灭。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验步骤

- 注意：**①对于 Hoechst 33258 固体粉末（C003），使用前请将其溶于水、DMF 或 DMSO，配成 10 mg/ml 的染色储备液，避光条件下 4℃ 冷藏短期保存，或 -20℃ 条件下长期保存。
- ②本实验操作说明适用于大多数种类的细胞或组织，但 Hoechst 33258 的工作浓度需要根据具体的细胞类型进行优化（推荐的工作液浓度及染液孵育的时间请参考表 1）。
- ③样品的染色可能受以下多种因素的影响：如实验中使用的培养基、细胞密度、杂细胞的存在；另外，玻璃容器上残留的去污剂以及溶液中可产生荧光的物质也会影响染色结果。因此，请选择温和的去污剂清洁实验中使用的玻璃容器，并用温热的去离子水反复冲洗。
- ④建议依据表 1 中的染色工作液浓度范围，选择几个梯度浓度进行预实验。以获得染色液的最佳工作浓度。
- ⑤未结合染料的最大荧光发射波长范围为 510 nm ~ 540 nm，如果使用的染色液浓度过高，可能会在样品中观察到绿色荧光。
- ⑥保持 pH7.4 的环境有利于达到最佳的染色效果。
- ⑦如需进行免疫荧光染色，请操作完免疫荧光染色后，再进行 Hoechst 33258 核染。

表 1. Hoechst 33258 细胞染色推荐使用条件

细胞种类	染色工作液浓度	孵育时间
细菌	0.1~12 µg/ml	10~30 分钟
哺乳动物活细胞	0.2~5 µg/ml	20~30 分钟
固定的哺乳动物细胞	0.2~2 µg/ml	1~15 分钟

1. 对于固定的细胞或组织切片

1.1 用 PBS 洗涤细胞或组织切片，以除去固定液。

注意：对于悬浮细胞样品，去除固定液后，需要用 PBS 重悬细胞。

1.2 根据不同的细胞种类，按照表 1 推荐的浓度及孵育时间，室温孵育进行染色。

注意：对于贴壁细胞或组织切片，可直接加入少量 Hoechst 33258 染色工作液进行原位染色（保证覆盖住细胞样品即可）；对于悬浮细胞，至少加入待测染色样品体积 3 倍的染色液，混匀。

1.3 充分吸除 Hoechst 33258 染色工作液，用 PBS 或合适的缓冲液洗涤细胞两次或以上，每次 3-5 min。

1.4 在荧光显微镜下，选择合适的滤光片进行镜检。

2. 对于活细胞

2.1 按照表 1 推荐的浓度，直接向细胞培养液加入适量 Hoechst 33258 染色储备液，用移液枪轻轻吹匀使染液均匀分散在培养液中。

注意：由于加入后会经细胞培养液稀释，因此加入的染液为储备液，而不是配制好的工作液，需提前计算好加入的量。

2.2 37℃ 培养箱中，按照表 1 推荐的时间孵育。

2.3 吸去含有染色液的细胞培养液，用 PBS 或合适的缓冲液洗涤细胞两次或以上。

2.4 在荧光显微镜下，选择合适的滤光片进行镜检。

实验案例

