

## Hoechst 33258 死/活细胞 DNA 染料

### 1 产品基本信息

产品名称（中文）：Hoechst 33258 死/活细胞 DNA 染料

产品名称（英文）：Hoechst 33258 Live/Dead Cell DNA Dye

产品编号：MX1482

产品规格：10 mg

### 2 产品介绍

Hoechst 33258，也称 bis Benzimide H 33258 或 HOE 33258，是一种非嵌入性的亮蓝色荧光染料。染料在溶液中荧光较弱，它们在活细胞中 DNA 聚 AT 序列富集区域的小沟处与 DNA 结合后荧光变得明亮，所以此类染料也被称为 DNA 探针。因为背景低且染色非常稳定，对活细胞无毒，所以染色细胞不需洗涤步骤，结合 DNA 染色后可持续几天或更长时间。Hoechst 33258 与 Hoechst 33342 相比在水中的溶解度要高，但两种染料均具有高细胞膜渗透性，被广泛用于细胞凋亡检测，染色后可用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。

以贴壁细胞（96 孔板）举例，每孔 100  $\mu$ L 染色工作液，染色工作液浓度 5  $\mu$ g/mL 计算，10 mg 配置为工作液大概可以用于 20000 个孔的染色。

产品特点：

- 稳定性强：荧光亮度强且染料与 DNA 结合后发光稳定，持续时间长；
- 使用方便：可与我司其他产品搭配使用，方便灵活；
- 细胞毒性低：对活细胞无毒。

适用范围：

核酸染色

### 3 产品参数

外观：白色/黄色/淡黄色固体

Ex/Em: 352/461 nm（结合 DNA）

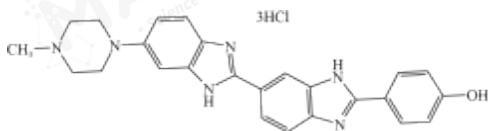
Ex/Em: 346/460 nm（未结合 DNA）

CAS 号：23491-45-4

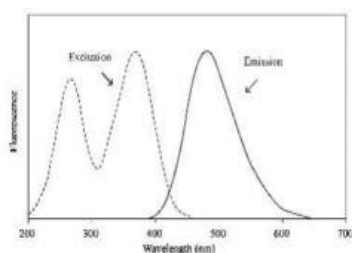
分子式：C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>O•3HCl

分子量：533.9

分子结构图：



光谱图



### 4 储存与运输

储存条件：-20 °C 避光保存

运输条件：冰袋运输

## 5 使用方法（仅供参考）

### 1. 工作液配置

- (1)向 EP 管中加入 1 mL ddH<sub>2</sub>O 配置 10 mg/mL 储液。
- (2)用 PBS 按照 1: 2000 稀释 Hoechst 33258 储液至终浓度为 5 µg/mL 的工作液。

### 2. 染色

#### (1)对于固定的细胞或组织

- 1)对于细胞或组织样品，固定后适当洗涤去除固定剂。如需免疫荧光染色，则先进行免疫荧光染色，染色完毕后再按后续步骤进行 Hoechst 33258 染色。
- 2)对于贴壁细胞或组织切片，加入少量 Hoechst 33258 工作液，覆盖住样品即可。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。室温放置 3~5 min。
- 3)吸除 Hoechst 33258 染色液，用 TBST、PBS 或生理盐水洗涤 2~3 次，每次 3~5 min。

注：清洗步骤可选但不是必需的，清洗后不影响染色。

- 4)直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。细胞发生凋亡时，会看到凋亡细胞的细胞核呈致密浓染，或呈碎块状致密浓染。

#### (2)对于活细胞或组织

- 1)加入适量 Hoechst 33258 工作液，充分覆盖待染色的样品，通常对于六孔板每孔需加入 1 mL 的染色液，对于 96 孔板每孔需加入 100 µL 的染色液。
- 2)室温避光孵育 10~30 min。
- 3)弃染色液，用 PBS 洗涤 2~3 次后添加 50 µL PBS 进行显微拍照。

注：清洗步骤可选但不是必需的，清洗后不影响染色。

## 6 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
- Hoechst 染料通常用于染色哺乳动物细胞，但是也可以用来染色死活细菌，染色死活细菌时推荐在 PBS 或 150 mM 的 NaCl 中溶解为终浓度 12~15 µg/mL 的染色液室温染色 30 min。对酵母的染色较弱。通常对于死细胞的染色要比活细胞染色亮度高。
- Hoechst 33258 染料溶于水时溶解度可达 10 mg/mL，用于细胞核染色时，推荐的 Hoechst 33258 工作浓度为 0.5~10 µg/mL，客户可根据实际染色情况对染色液浓度及染色时间进行调整。
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭。
- 本产品仅限于科研，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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。