

## Hoechst 33258 DNA 染料

### 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, 广泛应用于细胞成像技术中 DNA 和细胞核染色。其检测机制为: Hoechst 33258 可穿透细胞膜, 与双链 DNA (dsDNA) 中腺嘌呤-胸腺嘧啶 (A-T) 碱基对的小沟区域特异性结合, 进而实现细胞核的精准标记。该染料自身荧光背景微弱, 与 dsDNA 结合后会显著增强荧光强度, 发出明亮的蓝色荧光。

本产品可广泛应用于活细胞、固定细胞、组织样本及石蜡切片的细胞核染色, 同时可用于细胞凋亡检测与细胞周期分析实验, 染色结束后可通过荧光显微镜观察样本形态, 或借助流式细胞仪进行定量检测分析。需重点说明的是: Hoechst 33258 对活细胞的细胞膜渗透性较弱, 因此对健康的活细胞染色时的荧光信号较弱; 而对于凋亡细胞或细胞膜已受损的细胞, 可呈现出明亮的蓝色荧光。若实验需对健康活细胞实现高亮度蓝色荧光染色, 推荐选用同系列的 Hoechst 33342 染料 (H4047)。

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

### 应用范围

核酸染色

### 产品货号

H4046

### 储运条件

-20°C 避光保存, 有效期见外包装; 冰袋运输。

### 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:** 对活细胞毒性低。

### 产品组分

组分	H4046
Hoechst 33258	10 mg

### 产品参数

**外观:** 白色/黄色/淡黄色固体

**Ex/Em:** 352/461 nm (结合DNA)

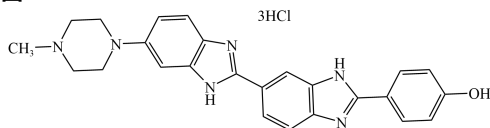
**Ex/Em:** 346/460 nm (未结合DNA)

**CAS号:** 23491-45-4

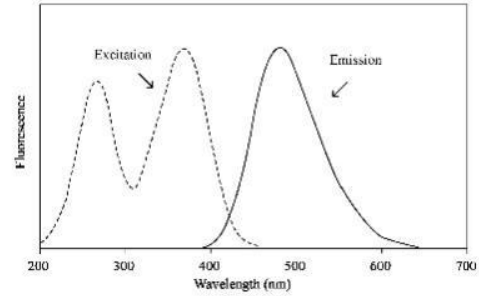
**分子式:**  $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}\cdot 3\text{HCl}$

**分子量:** 533.9

### 分子结构图:



### 光谱图:



### 注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验, 一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。
2. Hoechst 染料可以用于活细胞或者固定化细胞, 并且经常用来代替其它核酸染料如 DAPI。Hoechst 33342 与 Hoechst 33258 关键的不同点在于, Hoechst 33258 的一端是羟基, 羟基是个典型的“亲水基团”, 因此 Hoechst 33258 的亲水性更强, 较难透过完整的细胞膜, 通常对于死细胞的染色要比活细胞染色亮度高, 因此多用于固定细胞染色。
3. Hoechst 33258 溶于水, 溶解度可达 10mg/mL, 用于细胞核染色时, 推荐的 Hoechst 33258 工作浓度为 0.5~10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 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。
4. 荧光染料都存在淬灭的问题, 建议细胞或组织染色后立即观察。
5. 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。
6. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 操作步骤

#### 1. 工作液配制

(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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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。

## 同系列产品

产品货号	产品名称	选购指南
H4047	Hoechst 33342 DNA染料	固体粉末，保质期长，脂溶性优于H4046
H4079	Hoechst 33342染色液 (即用型)	H4047液体形式，使用方便
H4046	Hoechst 33258 DNA染料	固体粉末，保质期长，水溶性优于H4047
H4078	Hoechst 33258染色液 (即用型)	H4046液体形式，使用方便

## 相关联产品

产品货号	产品名称
P4034	Propidium Iodide (碘化丙啶, PI)
P4055	Propidium Iodide (碘化丙啶, PI溶液, 1 mg/mL)
H4047	Hoechst 33342 DNA染料
H4079	Hoechst 33342染色液 (即用型)
H4046	Hoechst 33258 DNA染料
H4078	Hoechst 33258染色液 (即用型)
A4075	7-AAD (7-氨基放线菌素D)
D4054	DAPI (4',6-二脒基-2-苯基吲哚二盐酸盐)
D4080	DAPI染色液 (即用型)
Y4077	Oxazole yellow (恶唑黄), 1mM in DMSO
E4052	Ethidium Homodimer-I (溴乙锭二聚体I, EthD-I)
D4068	DRAQ5活细胞DNA染料
A4082	抗荧光淬灭剂 (含DAPI)
A4084	抗荧光淬灭封片剂 (含DAPI)