产 品 说 明 书

Hoechst 33342 活细胞 DNA 染料

产品货号：SB-H4047

产品规格：10 mg

应用范围：核酸染色

产品参数

外观：可溶于水的黄色固体

Ex/Em（结合 DNA）= 350/461 nm

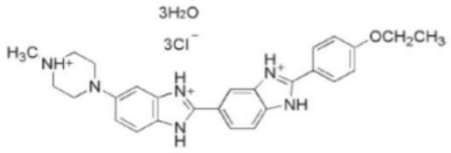
Ex/Em（未结合 DNA）= 346/460 nm

CAS 号：23491-52-3

分子式：$C_{27}H_{28}N_6O \bullet 3HCl \bullet 3H_2O$

分子量：615.99

分子结构图：



储存条件

-20℃避光保存，有效期见外包装。

产品介绍

Hoechst 33342，也称 bisBenzimide H33342 或 HOE 33342，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，但在 AT 序列富集区域的小沟处与 DNA 结合后荧光变得明亮，故此类染料也被称为 DNA 探针。因背景较低，故染色细胞不需洗涤步骤，且染色非常稳定，对活细胞无毒，结合 DNA 染色后可持续几天或更长时间。Hoechst 33342 与 Hoechst 33258 相比在水中的溶解度要低，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。

实验步骤

1. 工作液配置

（1）向 EP 管中加入 1 mL ddH_2O 配置 10 mg/ml 储液。

（2）用 PBS 按照 1:2000 稀释 Hoechst 33342 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

a. 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 33342 染色。

b. 对于贴壁细胞或组织切片，加入少量 Hoechst 33342 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。

c. 吸除 Hoechst 33342 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须的，清洗后不影响染色。

d. 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

a. 加入适量 Hoechst 33342 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。

b. 室温避光孵育 10-20 min。

c. 弃染色液，用 PBS 或培养液洗涤 2-3 次即可进行荧光检测。

注：清洗步骤可选但不是必须的，清洗后不影响染色。

注意事项

1. 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 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。

2. Hoechst 33342 溶于水时溶解度可达 10 mg/mL，用于细胞核染色时，推荐的 Hoechst 33342 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上下摸索。

3. 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。

4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。