

凋亡小体/hoeschst 染色试剂盒

目录号: ZP326

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP326 (100次)
固定液	50 ml
100×染色浓缩液	0.5 ml
染色稀释缓冲液	50 ml
说明书	1份

本产品收到后存放于 4℃各成份，6 个月内有效。

产品介绍:

凋亡中晚期细胞形态学变化为染色质在局部区域凝集，固缩，继而核碎裂出现凋亡小体。在 Hoeschst 染色下，细胞核或者凋亡小体的 DNA 会呈现致密浓染或者碎块状致密浓染。本试剂盒 Hoechst 染料紫外光激发波长 350-370 nm；发射波长 465 nm，在荧光显微镜下 DNA 发出蓝色荧光。

注意事项:

1. 需可以观察蓝色荧光的荧光显微镜或激光共聚焦显微镜。
2. 需 PBS 或 0.9%NaCl 溶液，盖玻片与载玻片。
3. 荧光容易淬灭，应该尽量避光操作和保存。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

1. 贴壁细胞
 - 1) 取普通洁净盖玻片于 70%乙醇中浸泡 5 分钟或更长时间，无菌超净台内吹干或用细胞培养级 PBS 或 0.9%NaCl 等溶液洗涤三遍，再用细胞培养液洗涤一遍。将盖玻片置于六孔板内，种入细胞培养过夜，使约为 50%-80%满。
 - 2) 刺激细胞发生凋亡后，吸尽培养液，加入 0.5ml 固定液，固定 10 分钟或更长时间（可 4℃过夜）。

本试剂盒使用固定液主要为 4%多聚甲醛，如果不适合您的细胞或者效果不佳，很多种固定配方如细胞固定液『甲醇：冰乙酸（3：1）现配』，都可以使用，可以根据自己细胞特点选用适合的固定方法。

- 3) 去固定液，用 PBS 或 0.9%NaCl 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时宜用摇床，或手动晃动数次。
- 4) 取 5μl 100×染色浓缩液与 0.5ml 染色稀释缓冲液混合后加入染色 5-10 分钟，也宜用摇床，或手动晃动数次。
- 5) 用 PBS 或 0.9%NaCl 洗两遍，每次 3 分钟。
- 6) 滴一滴封片液于载玻片上，盖上贴有细胞的盖玻片，尽量避免气泡。使细胞接触封片液，切勿弄反。荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长在 350nm 左右，发射波长在 460nm 左右。

封片液可使用 50%PBS/50%甘油（等体积混合），如果荧光淬灭太快影响观察，应该选用商品化的抗荧光淬灭封片液。

2. 悬浮细胞

- 1) 离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内，加入 0.5ml 固定液，缓缓悬起细胞，固定 10 分钟或更长时间（可 4℃过夜）。
- 2) 离心去固定液，用 PBS 或 0.9%NaCl 洗两遍，每次 3 分钟。洗涤期间手动晃动。
- 3) 最后一次离心后吸去大部分液体保留约 50 μ l 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) 取 5 μ l 100 \times 染色浓缩液与 0.5ml 染色稀释缓冲液混合后均匀滴上染色 5-10 分钟，用吸水纸从边缘吸去液体，微晾干。
- 6) 用 PBS 或 0.9%NaCl 洗两遍，每次 3 分钟。
- 7) 和贴壁细胞一样封片观察。

3. 组织切片

- 1) 对于任何常见切片，处理至常规可以进行免疫染色时，或完成常规的免疫染色后，即可进行后续的 Hoeschst 染色。
- 2) PBS 或 0.9%NaCl 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时宜用摇床，或手动晃动数次。可在六孔板中操作。
- 3) 取 5 μ l 100 \times 染色浓缩液与 0.5ml 染色稀释缓冲液混合后加入染色 5-10 分钟，也宜用摇床，或手动晃动数次。
- 4) 用 PBS 或 0.9%NaCl 洗两遍，每次 3 分钟。
- 5) 和贴壁细胞一样封片观察。