

## 细胞凋亡-Hoechst33342/PI 检测试剂盒（双染）

Cat #:GK3602-100T

### 一、试剂盒组成、规格：

成分	100T
细胞染色缓冲液	50ml×2
Hoechst 染色液	0.5ml
PI 染色液	0.5ml
说明书	1 份

### 二、产品简介：

Hoechst 33342 在凋亡细胞中的荧光强度要比正常细胞中要高，Hoechst 33342 在凋亡细胞中的荧光强度增高的机制与凋亡细胞膜通透性发生改变有关，凋亡细胞早期细胞膜的完整性没有明显性改变，但细胞膜的通透性已有增强，因此进入凋亡细胞中的 Hoechst 33342 比正常细胞的多，而 EB、PI 或 7-AAD 等染料是不能进入细胞膜完整的活细胞中，即正常细胞和凋亡细胞在不经固定的情况下对这些染料是拒染的，坏死细胞由于膜完整性在早期即已破损，可被这些染料染色。根据这些特性，用 Hoechst 33342 结合 PI 或 EB 等染料对凋亡细胞进行双染色，就可在流式细胞仪上将正常细胞、凋亡细胞和坏死细胞区别开。

在双变量流式细胞仪的散点图上，这三群细胞表现分别为：正常细胞为低蓝色/低红色（Hoechst 33342+/PI+），凋亡细胞为高蓝色/低红色（Hoechst 33342++/PI+），坏死细胞为低蓝色/高红色（Hoechst 33342+/PI++）。

### 三、储存条件

4℃保存六个月，-20℃保存一年。Hoechst 染色液和 PI 染色液需避光保存。

### 四、使用方法（仅供参考）：

#### 1、流式检测样品收集流程：

- 1) 每个样品收集约 10-100 万细胞于 1.5ml 离心管内，离心弃上清，细胞沉淀用 0.8-1ml 细胞染色缓冲液重悬。
- 2) 加入 5ul Hoechst 染色液。
- 3) 加入 5ul PI 染色液。
- 4) 混匀，37℃孵育 7-10min。
- 5) 用流式细胞仪检测红色荧光和蓝色荧光。

#### 2、使用荧光显微镜检测流程：

##### 悬浮细胞：

- 1) 每个样品收集约 10-100 万细胞于 1.5ml 离心管内，离心弃上清，细胞沉淀用 0.8-1ml 细胞染色缓冲液重悬。
- 2) 加入 5ul Hoechst 染色液。
- 3) 加入 5ul PI 染色液。
- 4) 混匀，37℃孵育 7-10min。
- 5) 再涂片观察红色荧光和蓝色荧光。

##### 贴壁细胞：

对于贴壁细胞使用荧光显微镜检测，可以不收集细胞，直接依次按照以上比例加入细胞染色缓冲液、Hoechst 染色液和 PI 染色液，37℃孵育 7-10min。染色后 PBS 洗涤一次，再在荧光显微镜下观察。

### 五、注意事项

- 1、在红色荧光对蓝色荧光散点图上，还可见到细胞凋亡区向细胞坏死区迁移的轨迹，可能是凋亡细胞的 DNA 进一步降解的缘故。
- 2、用 Hoechst 33342 染料与细胞孵育的时间不宜过长。如果太长可引起 Hoechst 33342 的发射光谱由蓝光向红光的迁移，导致红色荧光与蓝色荧光的比例改变，从而影响结果的判断。
- 3、需使用流式细胞仪进行红色和蓝色双荧光检测，也可使用荧光显微镜检测。
- 4、染色后宜尽快检测。
- 5、Hoechst33342 对人体有害，碘化丙啶（PI）对人体有刺激性，请注意适当防护。
- 6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套。