天净沙系列

CAT#:241018

低温运输，-20℃保存

Hoechst/PI 细胞凋亡和细胞坏死检测试剂盒

Hoechst/PI Apoptosis & Necrosis Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品可以用于快速检测细胞凋亡和细胞坏死，它采用 Hoechst 33342 染料和碘化丙啶（Propidium Iodide，PI）两种染料进行双染，这 Hoechst 33342 染料都可以穿透凋亡细胞和坏死细胞的细胞膜，但几乎不能进入活细胞。PI 染料都可以穿透坏死细胞的细胞膜，但不能进入活细胞和细胞膜完整的凋亡细胞。双染后，由于颜色的叠加，正常活细胞呈淡蓝色/淡红色（Hoechst+/PI+），凋亡细胞为深蓝色/深红色（Hoechst++/PI+），坏死细胞为淡蓝色/深红色（Hoechst+/PI++）。

本试剂盒染色快速方便，两种染料的染色仅需 20-30 min，一步染色即可完成。使用流式细胞仪检测时，无需稀释等配制过程，也无需再准备其它任何溶液。本试剂盒足够检测 100 个样品，每个样品的细胞数量可达 1E5-1E6 个。本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用塑料袋包装

成分	编号	规格	包装
Hoechst/PI 细胞重悬液	241018a	100 mL	120 mL 本色瓶
Hoechst 33342 染液	5-C23491-52-3	0.5 mL	1.5 mL 棕塑管
PI 染液	5-C25535-16-4	0.5 mL	1.5 mL 棕塑管
使用手册	241018sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃避光保存，有效期 12 个月。

自备物品

细胞培养基、 细胞染色 buffer、流式细胞仪或荧光显微镜

使用方法

1. 在 4℃ 1000×g 离心 3-5 min 的条件下收集悬浮生长的细胞。固定培养的细胞则需要先用常规方法消化，离心收集 1E5-1E6 个细胞，并重悬于 1 mL 培养基中，4℃，1000×g 离心 3-5 min 离心收集细胞，弃上清。用 0.8-1 mL 本试剂盒提供的 Hoechst/PI 细胞重悬液重悬细胞。
2. 加入 5 μL Hoechst33342 染液。
3. 加入 5 μL PI 染液。
4. 混匀后冰浴 20 min。注意：用 Hoechst 33342 与细胞孵育的时间不宜超过 20 分钟，否则会引起 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。
5. 用流式细胞仪检测红色荧光和蓝色荧光。如果使用荧光显微镜检测，检测前离心沉淀细胞，用 PBS 洗涤一次，再涂片观察红色荧光和蓝色荧光。
6. 对于贴壁细胞，可以不收集细胞而直接用荧光显微镜检测：直接在长有细胞的玻片上按 Hoechst/PI 细胞重悬液：Hoechst 33342 染液和 PI 染液的体积比

	=800：5：5 的比例加如三种成分，冰浴 20 分钟染色。染色后 PBS 洗涤一次，再在荧光显微镜下观察。观察 Hoechst 33342 染色效果时使用 352 nm 激发波长，400-500 nm 发射波长；观察 PI 染色效果时使用 488 nm 激发波长，630 nm 发射波长。 7. 注意事项：流式细胞仪分析或荧光显微镜观察 Hoechst 33342 染色时用氪激光激发的紫外光，激发波长为 352 nm，发射波长为 400~500 nm，Hoechst 33342 将产生蓝色荧光；观察 PI 染色时使用氩离子激光激发荧光，激发光波波长为 488 nm，发射光波波长大于 630 nm，PI 将产生红色荧光。 8. 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。 9. 为减缓荧光淬灭可以使用抗荧光淬灭封片液。 10. Hoechst Stain 对人体有害，PI 对人体有刺激性，请注意适当防护。
关联产品	细胞骨架绿色荧光染色液