

AipBest 凋亡小体/Hoeschst 染色试剂盒(溶液型)

AipBest Apoptotic Bodies/Hoeschst staining Kit(Solution Type)

使用说明书

◆目录号：AD203

目录编号	包装单位
AD203-01	100次

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	100 次 (AD203-01)
固定液	4°C	50mL
100× 染色浓缩液	4°C(避光)	0.5mL
染色稀释缓冲液	4°C或室温	50mL

◆产品储存：本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，12 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 1×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°C过夜)。

注：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 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。
- 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。

注 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 $^{\circ}$ C 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。

=====

