



Hoechst 33342 染色液（1mg/mL）说明书

货号：WGD-X-3100155

I 产品介绍

本司生产的 Hoechst 33342 染色液（1mg/mL）是一种常用的高灵敏度、高特异性的细胞膜通透性荧光染料，适用于活细胞的细胞核染色，其主要成分为 2'-(4-乙基苯基)-5-(4-甲基-1-哌嗪基)-2,5'-双-1H-苯并咪唑。与 DAPI 的染色原理相似，Hoechst 33342 通过特异性的嵌入 DNA 的双螺旋小沟，在激发光下发出蓝色荧光。Hoechst 33342 在水溶液中的最大激发/发射波长是 346/460 nm，当与双链 DNA（dsDNA）结合后，荧光强度显著增强约 20~30 倍，但峰值波长仅轻微偏移，其最大激发/发射波长转变为 350/461 nm。

由于 Hoechst 33342 染色液可以穿透健康细胞膜，且毒性相对较低，因此广泛应用于基于荧光显微镜、流式细胞术、3D 培养和高内涵筛选（HCS）等实验技术下的干细胞或侧群（SP）细胞分析、活细胞标记、核定位与形态分析、细胞凋亡与坏死检测以及细胞周期分析等。

本产品是 Hoechst 33342 的水溶液，浓度为 1 mg/mL，只需用合适的缓冲液稀释到工作液即可。Hoechst 33342 染色时可用 355 nm 激发光激发；亦可用 405 nm 激发光代替，但其信号强度约为 355 nm 激发的 60%~80%，且信噪比可能降低，需适当延长曝光时间。

I 产品目录

产品名称	规格
Hoechst 33342 染色液（1mg/mL）	1 mL

I 产品组成

组分	含量
Hoechst 33342 染色液（1mg/mL）	1 mL

I 产品用途

本产品适用于基于荧光显微镜、流式细胞术、3D 培养和高内涵筛选（HCS）等实验技术下的干细胞或侧群（SP）细胞分析、活细胞标记、核定位与形态分析、细胞凋亡与坏死检测以及细胞周期分析等。

I 产品特点

- 1. 纯度高：Hoechst 33342 纯度≥99%，确保更低杂质干扰，染色结果稳定可靠。
- 2. 毒性低：工作浓度下（<5 μg/mL）对细胞活性影响极小，适合长期活细胞成像（如延时摄影）。
- 3. 膜通透性：无需固定或通透步骤即可自由穿透健康细胞膜对细胞核内的 DNA 进行染色。
- 4. 操作简便：本产品为水溶液，可直接使用或按实验需求稀释，操作便捷。
- 5. 适用范围广：适用于哺乳动物、植物细胞及细菌的 DNA 染色，兼容流式细胞术、荧光显微镜、高内涵筛选（HCS）等多种检测平台。

I 注意事项

- 1. Hoechst 33342 光稳定性较差，存在易淬灭问题，应高度避光，以减缓荧光淬灭。
- 2. 避免细菌或真菌污染，可能会严重影响检测结果。
- 3. 避免反复冻融，建议 50~100 μL/管分装保存。
- 4. Hoechst 33342 和 DAPI 的发射光谱高度重叠，避免两者同时使用，推荐联用染料 FITC（绿）或 PI（红）。
- 5. 干细胞或 SP 细胞分析时需额外检测 670 nm 波长信号。



6. Hoechst 33342 为潜在致突变剂，为了您的安全和健康，请穿实验服并戴口罩与一次性手套操作。
7. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

操作步骤

1. 贴壁细胞复染步骤：

1.1 Hoechst 33342 染色工作液配制：根据不同实验要求，选择无菌水、1×PBS 缓冲液或培养基等溶液稀释 Hoechst 33342 染色液（1mg/mL），配制成 0.1 ~ 5 μg/mL 的 Hoechst 33342 染色工作液。

1.2 染色：加入 200 μL 染色工作液，轻轻晃动使其完全覆盖细胞，37℃避光孵育 10 ~ 15 min。

1.4 洗涤：吸去染色工作液，用 1×PBS 或培养基洗涤 2 ~ 3 次，每次 3 ~ 5 min。

1.5 观察：选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

注：若需要用流式细胞仪检测，需将细胞用胰蛋白酶消化重悬后再进行染色，可参考悬浮细胞复染步骤。

2. 悬浮细胞复染步骤：

2.1 Hoechst 33342 染色工作液配制：根据不同实验要求，选择无菌水、1×PBS 缓冲液或培养基等溶液稀释 Hoechst 33342 染色液（1mg/mL），配制成 2 ~ 5 μg/mL 的 Hoechst 33342 染色工作液。

2.2 洗涤：离心收集细胞，加入 1×PBS 洗涤 2 ~ 3 次，每次 3 ~ 5 min。

2.3 染色：每 1×10⁶ 个细胞加入 200 μL 染色工作液，37℃避光孵育 10 ~ 15 min。

2.4 洗涤：离心，弃去上清，加入 1×PBS 洗涤细胞 2 ~ 3 次，每次 3 ~ 5 min。

2.5 观察：使用荧光显微镜或流式细胞仪观察染色结果。

3. 干细胞或 SP 细胞分析步骤：

3.1 Hoechst 33342 染色工作液配制：选择 1×PBS 缓冲液稀释 Hoechst 33342 染色液（1mg/mL），配制成 2 ~ 5 μg/mL 的 Hoechst 33342 染色工作液。

3.2 样本准备：根据标准步骤处理样本，并使用 1×PBS 缓冲液调整细胞密度在 1×10⁶/mL。

3.3 染色：实验组加入 1 mL Hoechst 33342 染色工作液；抑制对照组先加入 Verapamil(50 μM)或 Fumitremorgin C(10 μM)预孵育 15 min，再加入 1 mL Hoechst 33342 染色工作液。37℃避光孵育 90 min。

3.4 洗涤：染色完成后，冰浴 10 min，离心去除上清液后加入预冷的 1×PBS 洗涤细胞 1 ~ 2 次，每次 5 min。

3.5 检测：流式细胞术（紫外/紫激光激发，双发射波长检测）

激发波长：355 nm 或 405 nm。

发射波长：Hoechst Red (>670 nm LP)

Hoechst Blue (450/40 nm)

应用场景	推荐浓度	染色时间	注意事项
活细胞核染色	0.1 ~ 2 μg/mL	10 ~ 30 min	低浓度减少毒性，适合长时间观察
固定细胞染色	2 ~ 5 μg/mL	15 ~ 20 min	常规使用，背景低
流式细胞周期分析	5 ~ 10 μg/mL	15 ~ 30 min	必须 100 μg/mL RNase A 处理
SP 细胞鉴定	2 ~ 5 μg/mL	90 min	必须设抑制对照组

储存及运输条件

-25 ~ -15℃避光保存 12 个月，冰袋运输。

常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
荧光信号弱或无信号	染料浓度过低或孵育时间不足	提高染色工作液浓度或延长孵育时间
背景荧光过高（非特异）	染色后未洗涤或洗涤不彻底	加入 1×PBS 洗涤细胞 2 ~ 3 次，每次 5 min



性染色)	死细胞膜破损，染料过度结合	联用 PI 染色液或 7-AAD，流式设门时去除 PI ⁺ 死细胞
染色不均匀	染色时细胞未分散均匀	孵育时可间隔 10 min 轻弹离心管；调整细胞密度≤ 10 ⁶ /mL
荧光淬灭	操作未避光或母液反复冻融	从染色到检测全程在暗环境中进行；分装母液，现配现用