



活死细胞双染试剂盒 (Hoechst 33342 & PI)

产品货号	包装规格
C052	2*1 mL

储存条件:-20 °C, 避光保存

产品说明书

晶科德生物科技(武汉)有限公司

Jinkede Biotechnology(Wuhan) Co.,Ltd

邮编 : 430000

电话 : 400-662-6996

网址 : www.genecodex-bio.cn

活死细胞双染试剂盒

货号：C052

试剂盒组分

组分	名称	浓度	体积	储存条件
C052A	Hoechst 33342 Live Cell Stain (Component A)	100X	1 mL	-20°C 避光保存, 避免反复冻融
C052B	PI (碘化丙啶) (Component B)	100X	1 mL	4°C 避光保存

解冻后可在 4°C 保存 1 个月。

产品介绍

本试剂盒包含 **Hoechst 33342** 和 **PI (碘化丙啶)** 两种荧光染料, 用于活细胞和死细胞的双重染色。**Hoechst 33342**: 细胞膜渗透性染料, 可染色所有细胞的细胞核 (活细胞和死细胞), 激发波长 350 nm, 发射波长 461 nm (蓝色荧光)。

PI (碘化丙啶): 细胞膜非渗透性染料, 仅染色死细胞或膜受损细胞的细胞核, 激发波长 535 nm, 发射波长 617 nm (红色荧光)。

通过本试剂盒, 可清晰区分:

活细胞: Hoechst 33342 阳性 (蓝色荧光), PI 阴性。

死细胞: Hoechst 33342 阳性 (蓝色荧光), PI 阳性 (红色荧光)。

实验步骤

1. 试剂准备

将 **Hoechst 33342 (100X)** 和 **PI (100X)** 用 PBS 或无血清培养基稀释至 1X 工作液:

Hoechst 33342 工作液: 1 μ L 100X 染料 + 99 μ L PBS/培养基。

PI 工作液: 1 μ L 100X 染料 + 99 μ L PBS/培养基。

2. 细胞染色

1. 收集细胞, 用 PBS 洗涤 1-2 次, 去除培养基中的血清。

2. 加入 **Hoechst 33342 工作液**, 终浓度为 1X (5 μ g/mL), 37°C 避光孵育 10-30 分钟。

3. 加入 **PI 工作液**, 终浓度为 1X (2 μ g/mL), 室温避光孵育 5-15 分钟。

4. 用 PBS 洗涤细胞 1-2 次, 去除未结合的染料。

3. 检测

荧光显微镜观察:

Hoechst 33342: 蓝色荧光 (激发 350 nm, 发射 461 nm)。

PI: 红色荧光 (激发 535 nm, 发射 617 nm)。

活死细胞双染试剂盒使用说明书

流式细胞仪检测:

使用紫外激光（350 nm）检测 Hoechst 33342，使用绿色激光（535 nm）检测 PI。

注意事项

- 避光操作:** Hoechst 33342 和 PI 均对光敏感，需全程避光操作。
- 染色顺序:** 建议先染 Hoechst 33342，再染 PI，以避免 PI 干扰 Hoechst 33342 的染色效果。
- 细胞密度:** 染色时细胞密度建议为 1×10^6 个/mL 个/mL，避免细胞聚集。
- 染色时间:** Hoechst 33342 染色时间不宜过长（通常不超过 30 分钟），以免影响细胞活性。
- 废物处理:** 染料为有害化学品，废弃液体需按照实验室规范处理。

结果示例

活细胞: 仅显示蓝色荧光（Hoechst 33342 阳性）。

死细胞: 显示蓝色和红色荧光（Hoechst 33342 和 PI 双阳性）。

常见问题及解决方案

问题	可能原因	解决方案
染色信号弱	染料浓度不足	增加染料浓度或延长染色时间
背景过高	洗涤不充分	增加洗涤次数
细胞聚集	细胞密度过高	调整细胞密度
PI 染色活细胞	细胞膜受损	优化细胞处理步骤