

## PureBlu™ Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye 取扱説明書

カタログ番号  
135-1304

品名  
PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye, 56  $\mu$ g バイアル x 5 本

この試薬は研究用目的にのみ使用できます。

### はじめに

PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye は Hoechst 33342 蛍光色素(図 1)の高純度製剤を使いやすい形状で梱包した製品です。

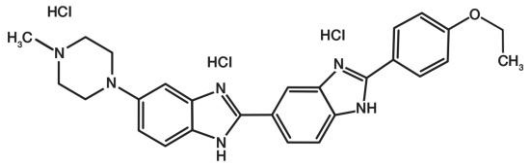


図 1 PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye の分子構造

Hoechst 33342 は AT-rich な DNA 配列の副溝(minor groove)に高親和性で結合することにより、真核細胞および原核細胞の DNA を染色することができる細胞透過性蛍光物質です。

Hoechst 33342 が DNA に結合し、UV 光源によって励起された場合に 461nm に最大蛍光波長を持つ青い蛍光が検出されます。PureBlu Hoechst 33342 は固有の約 100nm のストークシフトを有し(図 2)、良好なスペクトル分離が必要な場合に最適な色素です。

Hoechst は 蛍光顕微鏡や染色体ソーティング、フローサイトメトリーを用いた細胞周期分析など様々なアプリケーションに利用されていることが科学文献で報告されています。

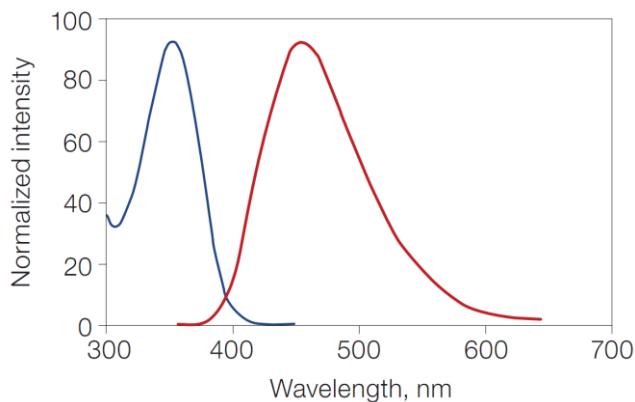


図 2 PureBlu Hoechst 33342 の励起/蛍光スペクトル

PureBlu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye は固定処理された細胞と固定処理されていない細胞のいずれにも使用することができます。特に、生細胞では DAPI(4',6-Diamidino-2-phenylindole dihydrochloride)よりも高い細胞膜透過性を示し、生細胞の DNA 染色に最適です。

Pure Blu Hoechst 33342 Nuclear Staining Dye は容易に調製できる形式で提供されています。各バイアルには 56  $\mu$ g の PureBlu Hoechst 33342 粉末が含まれており、1つのバイアルで 50ml の 1.1  $\mu$ g/ml(2  $\mu$ M)濃度のワーキング溶液を調製することができます。

## 仕様内容と保管

仕様と保存条件は表 1 のガイドラインに従ってください。

表 1 キット構成成分と保存条件

キット構成成分	数量
化学式	$C_{27}H_{28}N_6O \cdot 3HCl$
分子量	561.93
最大励起/蛍光波長	350nm/461nm
CAS	23491-52-3
純度	95%以上(high-performance liquid chromatography)
溶解性	脱イオン水(DI H <sub>2</sub> O)とジメチルスルホキシド(DMSO:dimethyl sulfoxide)に溶解
長期保存	-20°C
保管と安定性	-20°Cで2年間安定。溶解した場合には PureBlu Hoechst 色素は -20°Cで1年間安定もしくは2~8°Cで6ヶ月安定。
取扱注意点	遮光すること

## 細胞染色プロトコール

注:各細胞種での最適な濃度は実験的に決定してください。

### 染色溶液の調製

1. 乾燥粉末の PureBlu Hoechst 33342 が入ったチューブ 1 本に対して、500  $\mu$  l の DI H<sub>2</sub>O を加えた後、ボルテックスをして 100x ストック溶液(1.1  $\mu$  g/ml[2  $\mu$  M])を調製します。
2. 生細胞染色の場合には、ストック溶液を未使用の培地で 1:100 に希釈、固定化細胞には 1xPBS で 1:100 に希釈して、1x 染色溶液を調製します。

### 生細胞染色手順

1. 細胞種ごとの最適な条件下で細胞を培養します。
2. 培地を 1x 染色溶液(未使用の培地で調製したもの)に交換して、15 分間、37°C でインキュベートします。
3. 事前に 37°C に加温した 1xPBS で細胞を洗浄します。
4. PBS を吸引して、事前に 37°C に加温した新鮮な培地を加えます。
5. 細胞画像を撮影します。

### 固定化細胞染色手順

1. 細胞種ごとの最適な条件下で細胞を培養します。
2. 細胞を 1xPBS で洗浄します。
3. 4%ホルムアルデヒドで 10 分間、室温にて細胞を固定化します。
4. オプション: 1xPBS で洗浄し、PBST(0.1% Triton X-100 を含 1xPBS) で室温で 5 分間透過処理をします。
5. 細胞を 1xPBS で洗浄します。
6. 1x 染色溶液(1xPBS で調製したもの)で 15 分間、室温で細胞を染色します。
7. 細胞を 1xPBS で洗浄します。
8. オプション: PBS を除去し、退色防止封入剤で細胞を封入します。
9. 細胞画像を撮影します。

より詳細な情報は URL をご参照ください。 [www.bio-rad.com/PureBluDAPI](http://www.bio-rad.com/PureBluDAPI)

Triton は Dow Chemical Company の登録商標です。



バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社

ライフサイエンス事業部

Visit us at <http://www.bio-rad.com>

本社 〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 Tel : 03-6361-7000 Fax : 03-5463-8480

製品の学術的なお問い合わせは

Mail : [life\\_ps\\_jp@bio-rad.com](mailto:life_ps_jp@bio-rad.com) Tel : 03-6404-0331 Fax : 03-6404-0334

MNL1351304

M10681 1502A