



## 支原体染色检测试剂盒

### 产品简介:

支原体染色检测试剂盒(Mycoplasma Stain Assay Kit)是一种经典的利用 DNA 荧光染色法检测支原体污染的试剂盒,其原理是当细胞发生凋亡时,染色质会固缩,Hoechst 染色后在荧光显微镜下观察,正常细胞的细胞核呈正常的蓝色,而凋亡细胞的细胞核会呈致密浓染,或呈碎块状致密浓染,颜色有些发白。

NOVON Hoechst Staining Kit 经常用于培养的贴壁或悬浮细胞以及组织切片的细胞凋亡检测。该试剂盒检测细胞含量范围一般为  $0.1 \sim 1 \times 10^6$  之间。

### 产品组成:

名称	SS0207 (100T)	Storage
试剂(A): Hoechst 固定液	50ml	RT
试剂(B): Hoechst 染色液	50ml	-20℃ 避光
试剂(C): 荧光封片剂	5ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

### 自备材料:

- 1、可观察蓝光的荧光显微镜或激光共聚焦显微镜
- 2、PBS 或生理盐水
- 3、载玻片、盖玻片
- 4、预冷固定液:预冷的 70%乙醇或 4%多聚甲醛

### 操作步骤(仅供参考):

#### (一)贴壁细胞

- 1、取洁净盖玻片在 70%乙醇中浸泡 5 分钟或更长时间,无菌超净台内吹干或用无菌的 PBS 或生理盐水洗涤 3 次,再用细胞培养液洗涤 1 次。将盖玻片置于 6 孔板或其他培养皿内,接种细胞培养过夜,使融合率约为 50%~80%。
- 2、加入干预条件使细胞发生凋亡后,吸尽培养液,加入 Hoechst 固定液 0.5ml,固定 10 分钟或更长时间(可 4℃过夜)。
- 3、去除固定液,用 PBS 或生理盐水洗 2 次,每次 3min,吸尽液体。洗涤时宜用摇床,或手动晃动。
- 4、加入 Hoechst 染色液 0.5ml,孵育 5min。也宜用摇床,或手动晃动数次。
- 5、弃染色液,PBS 或生理盐水洗 2 次,每次 3min,吸尽液体。洗涤时宜用摇床,或手动晃动。
- 6、滴一滴抗荧封片剂于载玻片上,盖上贴有细胞的盖玻片,让细胞接触封片剂,避免气泡。
- 7、荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长 350nm 左右,发射波长 460nm 左右。

#### (二)悬浮细胞

- 1、离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内并弃液,加入 Hoechst 固定液 0.5ml,缓缓悬起细胞,固定 10min 或更长时间(亦可 4℃过夜)。
- 2、低速离心去除固定液,用 PBS 或生理盐水洗 2 次,每次 3min。洗涤时手动晃动数次。



- 3、低速离心离心后吸去大部分液体保留约 50  $\mu$ 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、均匀滴上 Hoechst 染色液 0.5ml，孵育 5 分钟。用吸水纸从边缘吸去液体，微晾干。
- 6、弃染色液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体。洗涤时宜用摇床手动。
- 7、滴一滴抗荧光封片剂于载玻片上，盖上一洁净的盖玻片，尽量避免气泡。
- 8、荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长 350nm 左右，发射波长 460nm 左右。

### (三)组织切片

- 1、常规包埋切片。用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min。洗涤时手动晃动数次。
- 2、均匀滴上 Hoechst 染色液 0.5ml，孵育 5 分钟。
- 3、弃染色液，PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动。
- 4、将切片置于载玻片上，滴一滴抗荧光封片剂，盖上一洁净的盖玻片，尽量避免气泡。
- 5、荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核。激发波长 350nm 左右，发射波长 460nm 左右。

### 注意事项：

- 1、荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。使用抗荧封片剂时也应避光操作。
- 2、在为了获得细胞沉淀的离心的过程中，对于特殊细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当提高离心力或延长离心时间。
- 3、Hoechst 染色液对人体有一定刺激性，请注意适当防护。
- 4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月有效。亦可 4℃ 保存, 1 个月有效。