

支原体染色检测试剂盒

产品简介：

支原体染色检测试剂 (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，其原理在于，当细胞发生凋亡时，染色质会固缩，Hoechst33258 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，或呈块状致密浓染，颜色有些发白。

Leagene Hoechst Staining Kit 经常用于培养的铁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/编号	RY0285-100T	Storage
试剂 A: Hoechst 固定液	50ml	RT
试剂 B: Hoechst 染色液	50ml	-20°C 避光
试剂 C: 荧光封片剂	5ml	4°C 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 33258 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，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。
- 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，尽量避免气泡。
- 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)

(二)悬浮细胞

- 1 离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内弃液，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,吸尽液体.洗涤时用手晃动数次.
- 3 低速离心离心后吸去大部分液体保留 50ul 液体,在缓缓悬起细胞,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 33258 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,或手动晃动.

7 滴一滴抗荧光封片剂于载玻片上,盖上一清洁的盖玻片,尽量避免气泡.

8 荧光显微镜可检测到呈蓝色的细胞核.激发波长为 350nm 左右,发射波长为 460nm 左右.

(三)组织切片

1 常规包埋切片。

2 用 PBS 或生理盐水洗 2 次,每次 3min.洗涤时手摇晃动数次。

3 均匀滴上 Hoechst 33258 染色液 0.5ml,孵育 5 分钟。

4 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,或手动晃动。

5 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。

6 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 33258 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,请穿实验服并带一次性手套操作。

有效期:

12 个月有效。亦可 4 摄氏度保存,一个月有效。