

## Beyo3D™ Hoechst 33342染色液

产品编号	产品名称	包装
C1345S	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10ml
C1345M	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	50ml
C1345L	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	200ml

### 产品简介:

- 碧云天研发生产的Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(Beyo3D™ Hoechst 33342 Staining Solution), 也称3D细胞核染色液(3D Cell Nuclear Staining Solution), 是一种快速、便捷的用于3D培养的细胞球或类器官等的细胞核染色的溶液。仅需染色10分钟就可在荧光显微镜下观察到非常明亮的细胞核蓝色荧光染色。如果细胞球或类器官中有凋亡细胞, 其细胞核会呈致密浓染, 或呈碎块状致密浓染。本产品不仅可以用于常规的细胞核染色, 也能用于监测细胞凋亡等细胞核异常现象。
- Hoechst 33342, 也称bisBenzimide H 33342或HOE 33342。分子式为 $C_{27}H_{28}N_6O \cdot 3HCl \cdot 3H_2O$ , 分子量为615.99, CAS Number 23491-52-3。Hoechst 33342的最大激发波长为346nm, 最大发射波长为460nm; Hoechst 33342和双链DNA结合后, 最大激发波长为350nm, 最大发射波长为461nm。
- Hoechst 33342是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料, 对细胞的毒性较低。常用于细胞凋亡检测、普通的细胞核染色或常规的DNA染色。
- **本产品适用范围广。**本产品可用于各种方法培养出的3D细胞球或类器官, 包括超低吸附细胞培养板、Matrix-Gel™ 基质胶或Matrigel包被的平板、琼脂糖包被的平板、细胞悬滴培养板等。不仅可以用于常规的细胞核荧光染色, 也能用于检测细胞凋亡。
- **本产品使用便捷, 整个实验过程仅需约10-30分钟即可完成。**对于常规的3D细胞活细胞染色, 仅需加入本产品避光孵育10分钟即可进行荧光检测, 也可以固定后再加入本产品进行染色。本产品固定后染色效果优于活细胞直接染色效果。本产品和适用于2D细胞的Hoechst 33342活细胞染色液(100X) (C1027/C1028/C1029)对3D培养的HCT-116和HeLa细胞的染色效果对比参考图1。

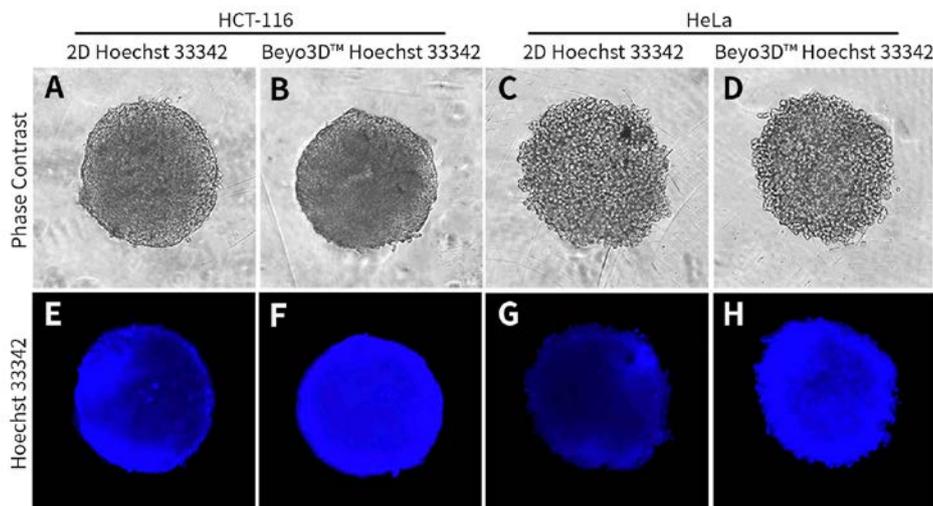


图1. 碧云天Beyo3D™ Hoechst 33342染色液(C1345)和Hoechst 33342活细胞染色液(100X) (C1027/C1028/C1029)对于3D培养的HCT-116和HeLa细胞的染色效果对比图。5000个HCT-116细胞和1000个HeLa细胞在使用碧云天3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板) (C0366)包被的U形底96孔板中培养48小时, 每孔先加入100μl免疫染色固定液(P0098)固定3D细胞球10分钟, 然后再分别用Hoechst 33342活细胞染色液(100X)即2D Hoechst 33342和Beyo3D™ Hoechst 33342染色液即Beyo3D™ Hoechst 33342染色10分钟。结果显示, Beyo3D™ Hoechst 33342染色液对于3D细胞的染色效果显著优于适用于2D细胞的Hoechst 33342活细胞染色液(100X), 且固定后的染色效果更佳。实际检测效果会因细胞株、实验条件、检测仪器的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 传统的细胞培养大多以二维(Two-dimensional, 2D)的形式展开, 但2D培养的细胞在生长方式、生长形态、分化和功能等方面都与体内生理条件下细胞的真实形态和结构存在明显差异, 可能会因为细胞结构和组织形态的缺失, 使实验结果的可信度降低[1-3]。三维(Three-dimensional, 3D)细胞培养能够更好地模拟体内细胞生存的微环境, 更能代表体内组织, 也能更真实的反应细胞与细胞间、细胞与基质间的相互作用, 细胞对外源性和内源性刺激的应答也更接近于它们在体内的反应, 3D细胞培养从而成为更有价值并更为可信的体外实验模型, 能够获得与体内实验更加一致的实验结果[4-5]。

- 3D肿瘤细胞模型越来越多地被用于了解疾病机制和药物研发。2D培养的肿瘤细胞，其单侧细胞膜可以均匀地获得营养和氧气，而3D培养的肿瘤细胞团的内部细胞获得营养和氧气的机会更少，形成自然的营养和氧气梯度，能更好地模拟体内微环境条件，因此3D培养的肿瘤球状体(Spheroid)或肿瘤类器官(Organoid)等能更好地模拟体内肿瘤，更利于小分子药物筛选或者肿瘤相关分子机制的研究，也更能准确地预测药物治疗的体内反应、疗效或毒性。同时，2D肿瘤细胞模型体外扩增有一定局限性，在传代后容易丧失原肿瘤的遗传异质性，出现优势克隆选择性，从而降低临床相关性。相比于2D细胞模型，3D细胞球或者类器官很多情况下能提供更可信的研究结果，简化并加速药物评价流程。自2009年小肠类器官首次建立至今，3D细胞和类器官研究已经扩展到很多组织系统，并成为生命科学最热门的领域之一。
- 按照96孔板每孔100 $\mu$ l Beyo3D™ Hoechst 33342染色液，本产品每10ml包装可以进行100个样品的检测。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C1345S	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10ml
C1345M	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	50ml
C1345L	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	200ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20°C避光保存，一年有效。

#### 注意事项：

- 本产品反复冻融可能会降低染色效果，为保证最佳使用效果，请尽量避免反复冻融，第一次解冻后可以适当分装保存。
- 细胞球在外力的作用下容易变形或分散，固定细胞球、PBS洗涤及换液等过程须轻柔，避免破坏或吹散3D细胞球。
- 本产品浓度经过碧云天的优化，确保可以满足活细胞染色及各种常规染色的需要。如需使用特定浓度的Hoechst 33342，请选购碧云天的粉末装Hoechst 33342 (C1022)。
- 荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽量当天完成检测。
- 为减缓荧光淬灭可以使用抗荧光淬灭封片液。抗荧光淬灭封片液(P0126)可以向碧云天订购。
- 尽管3D细胞球可以用本产品直接进行活细胞染色，但是为达到最佳染色效果，建议先用免疫染色固定液(P0098)进行固定后再进行染色，效果更佳。
- Hoechst 33342对人体有害，操作时请小心，并注意适当防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

本步骤以96孔板，每孔接种100 $\mu$ l细胞为例，如使用384孔板，各试剂使用量请按照相应比例进行换算。

##### 1. 3D细胞的准备。

在96孔3D培养板中每孔接种100 $\mu$ l细胞，细胞的接种量根据具体的实验方案，例如培养天数、需要的3D细胞球状体的大小等确定，按照3D细胞培养方案培养细胞。如有需要，可加入药物处理细胞。96孔3D培养板推荐使用碧云天的3D细胞培养板包被液(C0365)、3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)(C0366)包被的U形底96孔板，或直接使用BeyoGold™超低吸附96孔板(FULA962/FULA961)、BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(FULA965)等。

##### 2. 3D细胞固定(选做)。

小心去除孔内培养液，每孔加入100 $\mu$ l免疫染色固定液(P0098)，室温固定细胞10分钟。

注1：为达到最佳的使用效果，具体的固定时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状体大小等进行调整。

注2：固定细胞球等过程须轻柔，避免破坏或吹散3D细胞球。

##### 3. 3D细胞Hoechst 33342染色。

a. 如果进行了细胞固定，小心去除免疫染色固定液；对于活细胞染色，小心去除原有细胞培养液。

b. 每孔加入100 $\mu$ l Beyo3D™ Hoechst 33342染色液，在适宜于细胞培养的温度避光孵育10分钟，对于固定的细胞可以室温避光孵育10分钟。

注：为达到最佳的染色效果，具体染色时间可以根据细胞种类、培养天数、细胞球状大小等进行调整。

##### 4. 荧光拍摄。

染色结束后，可以无须洗涤，即可在荧光显微镜下观察。如果对于染色效果的要求不是特别高，染色5分钟，即可在荧光显微镜下观察。染色结束后，加入适量的PBS小心洗涤细胞1-2次，染色效果更佳。

注：PBS洗涤及换液等过程须轻柔，避免破坏或吹散3D细胞球。

#### 参考文献：

1. Kapałczyńska M, Kolenda T, Przybył a W, Zajączkowska M, Teresiak A, et al. Arch Med Sci. 2018. 14(4):910-919.
2. Riedl A, Schleder M, Pudenko K, Stadler M, Walter S, et al. J Cell Sci. 2017. 130(1):203-218.
3. Hoarau-Véhot J, Rafii A, Touboul C, Pasquier J. Int J Mol Sci. 2018. 19(1):181

4. Ravi M, Paramesh V, Kaviya SR, Anuradha E, Solomon FD. J Cell Physiol. 2015. 230(1):16-26.
5. Antoni D, Burckel H, Josset E, Noel G. Int J Mol Sci. 2015. 16(3):5517-27.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0365	3D细胞培养板包被液	20/100ml
C0366S	3D细胞培养包被试剂盒(U形底96孔板)	5plts
C0049	Cell Counting Kit-3D (CCK-3D试剂盒)	100/500/2500次
C0061	CellTiter-Lumi™发光法3D细胞活力检测试剂盒	100/500/2500次
C0371	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 含酚红)	1/5/10/50ml
C0372	Matrix-Gel™基质胶(标准型, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0376	Matrix-Gel™基质胶(低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0383	Matrix-Gel™基质胶(高浓度, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0387	Matrix-Gel™基质胶(高浓度低生长因子, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0392	Matrix-Gel™基质胶(干细胞用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C0396	Matrix-Gel™基质胶(类器官用, 不含酚红)	1/5/10/50ml
C1341	Beyo3D™ DAPI染色液	10/50/200ml
C1345	Beyo3D™ Hoechst 33342染色液	10/50/200ml
C1352	Beyo3D™ PI染色液	10/50/200ml
C1356	Beyo3D™ YO-PRO-1染色液	10/50/200ml
C1363	Beyo3D™ YO-PRO-1/PI细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100/500次
C1367	Beyo3D™ Calcein AM染色液(100X)	0.1/0.5/2ml
C1371	Beyo3D™ Calcein/PI细胞活性与细胞毒性检测试剂盒	100/500次
C1375	Beyo3D™活死细胞活力检测试剂盒	100/500次
P0121	BeyoCUBIC™ 3D细胞透明化试剂盒	5/25ml
FULA061	BeyoGold™超低吸附6孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA122	BeyoGold™超低吸附12孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA243	BeyoGold™超低吸附24孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA485	BeyoGold™超低吸附48孔板(平底带盖, 独立包装)	1/5/20个
FULA961	BeyoGold™超低吸附96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA962	BeyoGold™超低吸附96孔板(圆底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA965	BeyoGold™超低吸附黑色透明底96孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA981	BeyoGold™超低吸附384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA985	BeyoGold™超低吸附黑色透明底384孔板(平底带盖, 独立包装)	1/6/24个
FULA035-10pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋
FULA035-40pcs	BeyoGold™超低吸附35mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA060-10pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋
FULA060-40pcs	BeyoGold™超低吸附60mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱
FULA100-10pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋
FULA100-40pcs	BeyoGold™超低吸附100mm培养皿	10个/袋, 4袋/箱

Version 2024.05.13