

使用说明书

Instruction Manual

DAPI 染色液

DAPI Staining Solution

产品描述

DAPI (4',6-二脒基-2-苯基吲哚, 4',6-Diamidino-2-phenylindole) 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料。DAPI 分子的平面芳香环结构与 DNA 的 A-T 碱基对富集区互补结合, DAPI 分子能嵌入 DNA 双链的碱基对之间。当 DAPI 未与 DNA 结合时, 其分子处于游离状态, 几乎不发荧光。当 DAPI 与 DNA 结合后, 分子构象发生改变, 在紫外光激发下, 能发射出强烈的蓝色荧光 (最大激发波长约 340 nm, 发射波长约 488 nm)。DAPI 对双链 DNA 具有高亲和力, 可特异性标记细胞核。

产品信息

DAPI 染色液	
Ingredient	DAPI Dihydrochloride
CAS	28718-90-3
Conc.	1 mg/mL
Solvent	ddH2O

产品特点

- 灵敏度高, 对双链 DNA 的染色灵敏度高于溴化乙锭多倍。
- 细胞核标记特异性强, 对 DNA 的亲和力显著高于 RNA, RNA 背景干扰小。
- 荧光信号稳定, 染色后荧光信号可维持数天。
- 兼容性好, 可与多重荧光探针共染。
- 操作简便, 检测快速。

产品应用

细胞核形态观察、细胞周期分析、细胞计数与定位、染色体显带与核型分析、荧光原位杂交 (FISH) 实验。

工作液配制

用 PBS 将 DAPI 储备液稀释为 0.5-10 μ g/mL 的 DAPI 染色工作液 (避光操作)。具体浓度根据样本和实验需要进行调整。

使用说明

1. 贴壁细胞染色

- (1) 吸除旧培养基，用 PBS 洗涤细胞 3 次，每次 3 min。
- (2) 加入 4% 多聚甲醛，室温固定 10 min。固定结束后，用 PBS 洗涤细胞 3 次，每次 3 min。
- (3) 加入 0.1% Triton X-100（用 PBS 配制），破膜 5-10 min。用 PBS 洗涤细胞 3 次，每次 3 min。
- (4) 若需要进行免疫荧光染色，则先进行封闭和抗体孵育，再进行 DAPI 染色。若不需其它染色，则直接进行 DAPI 染色。
- (5) 加入 DAPI 染色工作液，室温下避光孵育 5-15 min。PBS 洗涤 3 次，每次 3 min。
- (6) 在载玻片上滴加适量抗荧光猝灭液，将有细胞的那面爬片贴合抗荧光猝灭液并放置其上，在爬片周围滴加封片液以封片。
- (7) 在荧光显微镜下观察并拍照记录。Ex=340 nm，Em=488 nm 左右。

2. 悬浮细胞染色

- (1) 将细胞悬液以 1000 rpm、4℃ 离心 5 min，弃上清。加 PBS 重悬细胞，以 1000 rpm、4℃ 离心 5 min，弃上清。重复用 PBS 洗涤细胞 1 次。
- (2) 加 4% 多聚甲醛，室温避光固定 15-20 min。固定结束后，以 1000 rpm、4℃ 离心 5 min，弃上清。用 PBS 洗涤细胞 2 次。
- (3) 加 0.1% Triton X-100（用 PBS 配制），冰上避光破膜 10-20 min。1000 rpm、4℃ 离心 5 min，弃上清，用含 0.1% Triton X-100 的 PBS 洗 1 次。
- (4) 若需要进行免疫荧光染色，则先进行封闭和抗体孵育，再进行 DAPI 染色。若不需其它染色，则直接进行 DAPI 染色。
- (5) 加入 DAPI 染色工作液，室温避光孵育 10-15 min。1000 rpm、4℃ 离心 5 min，弃上清，用 PBS 洗 1 次。
- (6) 加入 PBS 重悬，用于流式细胞术检测或制成细胞涂片后在荧光显微镜下检测。Ex=340 nm，Em=488 nm 左右。

储存条件

-20℃ 避光保存，一年有效。

注意事项

1. DAPI 见光易分解，染色过程及染色后需全程避光。
2. 不同细胞类型、组织样本对 DAPI 的敏感性不同，建议通过预实验确定最佳染色浓度和时间，避免背景过高或染色过浅。
3. 荧光存在淬灭问题，建议封片后尽快拍照，若需保存，可 4℃ 避光存放（但荧光仍会逐渐衰减）。
4. 建议设置未染色对照，排除非特异性荧光干扰。
5. DAPI 具有一定毒性，操作时需戴手套，避免接触皮肤和黏膜，废弃液体按有毒废弃物处理。
6. 本品仅适用于专业科研用途，严禁用于临床诊断、治疗、食品或药品领域，且不得存放于住宅等非专业场所。

