

DAPI (hydrochloride)

1. 产品描述

DAPI, 是一种常用的蓝色荧光 DNA 染色剂, 可对染色体和细胞核进行染色。DAPI 是一种 DNA 特异性结合分子, 通过附着到双链 DNA (dsDNA) 富含 A / T 序列的小沟上形成荧光复合物, 荧光增强约 20 倍。当 DAPI 与双链 DNA 结合时, 在 358 nm (紫外线) 波长处具有最大吸收, 其发射最大值在 461 nm (蓝光) 处。因此, 在荧光显微镜下, DAPI 被紫外线激发, 并使用蓝/青色滤光片进行检测。

DAPI 还广泛用于细胞培养物的标记, 以检测污染的支原体或病毒中的 DNA。

DAPI 也可对 RNA 进行染色, 但是是以不同的结合方式-其可以嵌入“AU 序列”并发出荧光。跟与 DNA 结合时相比, DAPI-RNA 具有更长的最大发射波长(500 nm), 其荧光亮度仅有 DAPI-DNA 复合物的 20%。

DAPI 不能进入活细胞中, 但高浓度的 DAPI 可以进入活细胞。DAPI 可用于分析固定细胞中的 DNA 含量, 或用作成像或流式细胞仪中的核复染。DAPI 的蓝色荧光可以搭配其他绿色、黄色或红色荧光染料用于多色荧光标记。

2. 产品信息

货号	产品名称	规格
C3362	DAPI (hydrochloride)	5mg/10mg/25mg

3. 使用方法

(1) 工作液配制

1) 储存液配制: 产品以粉末形式提供, 开盖前需要经过瞬时离心。如果产品是从冰箱中取出则需要先置于室温进行回温。用双蒸水溶解 DAPI 粉末, 配置浓度为 1-5 mg/mL 的储存液。储存液配置的浓度可以根据实验需求进行调整。建议使用者将溶液分装成小量储存于 -20℃, 可保存 1 年, 避免反复冻融。

2) 工作液配制: 将冻存的储存液置于室温充分融化和回温, 之后用双蒸水或 PBS 直接稀释储存液到需要的工作液浓度, 充分混匀。工作液浓度推荐 0.5-10 µg/mL。工作液浓度可根据自身实验需求进行调整。工作液可于 4 °C 保存 6 个月。

(2) 固定的细胞或组织染色

对于固定的细胞或组织样品, 固定后, 适当进行洗涤以去除固定剂。DAPI 染色通常在其他染色的最后进行。如果不需要进行其它染色, 则直接进行 DAPI 染色。

a) 对于贴壁细胞或组织切片: 加入适量 DAPI 染色液, 覆盖住样品即可。

对于悬浮细胞: 至少加入待测染色样品体积 3 倍的染色液, 混匀。室温放置 3-5 分钟。

b) 吸除 DAPI 染色液, 用 TBST、PBS 或生理盐水洗涤 2-3 次, 每次 3-5 分钟。

c) 直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。激发波长 360 nm, 发射波长 460

nm。

(3) 活细胞或组织染色

- a) 向细胞培养物中加入适量 DAPI 染色液，约 1/10 细胞培养液体积，必须充分覆盖住待染色的样品。通常对于六孔板一个孔需加入 1 mL 染色液，对于 96 孔板一个孔需加入 100 μ L 染色液。
- b) 在 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱培养细胞 10~20 分钟。
- c) 用 PBS 或合适的缓冲液洗细胞两次。
- d) 直接在荧光显微镜下观察或封片后荧光显微镜下观察。激发波长 360 nm，发射波长 460 nm。

注意事项

- 1) DAPI 对人体有一定刺激性，实验操作过程中请注意防护，避免直接接触人体或吸入体内。
- 2) 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。
- 3) 为减缓荧光淬灭可以使用抗荧光淬灭封片液。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。