

Version 1

Code No. AG51014

AG51016

# *CytoDet* DAPI 染色液 ( 即用型 )

## *CytoDet* DAPI Solution ( Ready-to-Use )

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc.



## ➤ 产品概述

本产品是基于 DAPI ( 4', 6-二脒基-2 苯基吡啶 ) 的荧光染料, 被广泛应用于细胞成像技术的 DNA 与细胞核染色。其检测原理是 DAPI 能够与 DNA 双链中的小沟结合后发出强烈的蓝色荧光 ( 最大激发光与发射光分别为  $E_x = 364 \text{ nm}$ ,  $E_m = 454 \text{ nm}$  ); DAPI 本身荧光背景较低, 与 dsDNA 结合后可使荧光强度增强约 20 倍。本产品操作简单, 仅需将 DAPI Solution ( Ready-to-Use ) 直接加入样本中, 孵育一定的时间后即可观察到明亮的蓝色荧光, 可用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。

本产品可广泛用于活细胞、固定细胞或组织、石蜡切片的细胞核染色、细胞凋亡、细胞周期等分析。本产品为  $5 \mu\text{g/ml}$  的即用型染色液, 无需稀释, 可直接使用, 若需要使用高浓度的 DAPI 染色液, 可选用本公司产品 *CytoDet* DAPI 染色液 ( Code No. AG51013 )。

## ➤ 产品组成

组分名称	AG51014	AG51016
DAPI Solution ( Ready-to-Use ) ( $5 \mu\text{g/ml}$ )	10 ml	50 ml

## ➤ 保存及运输

保存温度:  $-20^\circ\text{C}$  避光保存

运输温度:  $-20^\circ\text{C}$  冰袋运输

## ➤ 产品优势

1. 本产品为  $5 \mu\text{g/ml}$  的即用型染色液, 操作简单, 可直接加入至细胞中, 不需要稀释等步骤, 染色 5 ~ 20 min 即可观察到蓝色荧光, 染色性能稳定。
2. DAPI 与 dsDNA 结合后为典型的蓝色荧光, 在细胞生物学实验中, 非常适合搭配绿色、红色荧光基团在多色实验中共用。

## ➤ 实验原理

DAPI ( 4', 6-二脒基-2 苯基吡啶 ) 是一种广泛应用于固定细胞或组织的细胞核染色的荧光染料。其检测原理是 DAPI 能够与 DNA 双链中的小沟结合后发出强烈的蓝色荧光 ( 最大激发光与发射光分别为  $E_x = 364 \text{ nm}$ ,  $E_m = 454 \text{ nm}$  ); DAPI 本身荧光背景较低, 与 dsDNA 结合后可使荧光强度增强约 20 倍, 染色后可以通过荧光显微镜或流式细胞仪等检测。

## ➤ 实验前准备

### 1. 试剂 & 耗材:

PBS 或其它合适的缓冲液 ( 如 DPBS、细胞培养液 )、细胞或组织样本。

### 2. 仪器:

荧光显微镜 ( 带紫外激发光 )、桌面离心机、振荡器、移液器等。

## ➤ 实验前注意事项

1. DAPI Solution ( Ready-to-Use ) 需避光保存，实验过程中注意避光操作。
2. 荧光染料长时间可能会淬灭，建议染色后尽快完成检测，为了减缓荧光淬灭可使用抗荧光淬灭封片液。
3. DAPI 对人体存在一定刺激性，实验时请注意穿实验服并佩戴一次性口罩、手套进行操作。

## ➤ 操作方法

### A. 固定细胞染色

1. 对于固定的细胞样本，固定后用 PBS 洗涤 2~3 次去除固定剂。【注：若要进行免疫荧光染色，则先参照免疫荧光染色说明书进行染色，染色完毕后再参照下述步骤进行细胞核染色。】
2. 染色：
  - ✚ 对于贴壁细胞或组织切片，可直接在细胞培养板或载玻片上加入适量的 DAPI Solution( Ready-to-Use )，覆盖样本即可。室温避光孵育 5 min；
  - ✚ 对于悬浮细胞，离心收集细胞，去除上清，然后加入 1 ml DAPI Solution ( Ready-to-Use )，室温避光孵育 5 min。
3. 使用 PBS 清洗细胞 2~3 次，方法如下【注：若在不清洗的条件下成像，荧光强度可能会随时间的推移而增强】：
  - ✚ 对于贴壁细胞，吸去染色液，再加入适量 PBS 或其它合适的缓冲液，覆盖样本，前后左右晃动培养皿，然后去掉 PBS，按照此方法洗涤 2~3 次即可；
  - ✚ 对于悬浮细胞，离心收集细胞沉淀，吸去含染色液的上清，然后用 PBS 或其它合适的缓冲液重悬细胞，离心去掉 PBS，收集细胞沉淀，按此方法洗涤 2~3 次。
4. 加入适量的 PBS 后，直接在荧光显微镜下观察，激发光设为紫外光。

## B. 石蜡切片染色

1. 对常规的石蜡包埋切片，可以用二甲苯或其他脱蜡液进行脱蜡，梯度酒精清洗至水。
2. 用 PBS 或其它缓冲液洗涤 2~3 次，洗涤时用摇床或手动晃动数次，吸去 PBS。
3. 染色：加入适量 DAPI Solution ( Ready-to-Use )，覆盖样本即可，室温避光孵育 5 min。
4. 吸去染色液，然后用 PBS 或其它缓冲液洗涤 2~3 次，洗涤时用摇床或手动晃动数次。【注：若在不清洗的条件下成像，荧光强度可能会随时间的推移而增强。】
5. 直接在荧光显微镜下观察，激发光设为紫外光。

## C. 活细胞染色

1. 吸去细胞培养皿或细胞培养板中的培养基：
  - ✚ 对于贴壁细胞，直接吸去细胞培养基；
  - ✚ 对于悬浮细胞，离心收集细胞沉淀，吸去培养基。
2. 将 DAPI Solution( Ready-to-Use )直接加入细胞中( 贴壁细胞覆盖细胞即可，悬浮细胞按  $1 \times 10^6$  个细胞/ml 进行添加 )，用移液枪轻柔吹打混匀或前后左右晃动培养皿混匀。
3. 放置于 37°C 细胞培养箱或室温孵育 10~20 min。
4. 使用 PBS 清洗细胞 2~3 次，方法如下【注：若在不清洗的条件下成像，荧光强度可能会随时间的推移而增强】：
  - ✚ 对于贴壁细胞，吸去含有染色液的培养基，再加入适量 PBS 或其它合适的缓冲液，覆盖样本，前后左右晃动培养皿，然后去掉 PBS，按照此方法洗涤 2~3 次即可；
  - ✚ 对于悬浮细胞，离心收集细胞沉淀，去除含染色液的上清，然后用 PBS 或其它合适的缓冲液重悬细胞，离心去掉 PBS，收集细胞沉淀，按此方法洗涤 2~3 次即可。
5. 加入适量的 PBS 后，直接在荧光显微镜下观察，激发光设为紫外光。

## ➤ 实验例

1. 分别用适量的 4%多聚甲醛固定液室温固定  $1 \times 10^6$  个 Jurkat 细胞和 12 孔板中的 Hela 细胞，去除固定液后加入适量的 PBS 洗涤两遍，然后用适量的

DAPI Solution ( Ready-to-Use ) 进行染色，结果如下图所示，细胞核呈现蓝色荧光。

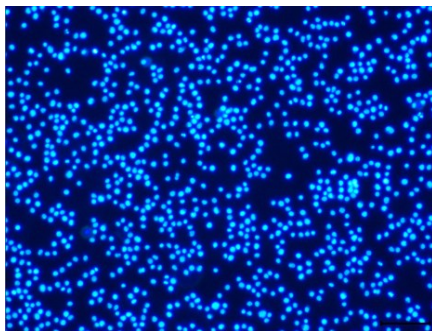


图 1: Jurkat 细胞染色图

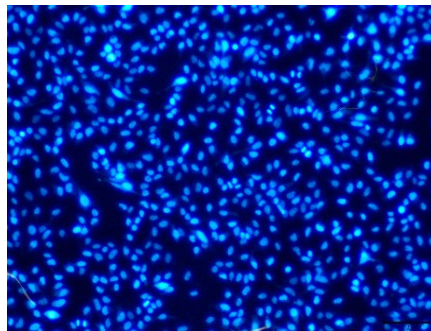


图 2: HeLa 细胞染色图

## ➤ 产品注意事项

### 1. 防污染措施:

- ❖ 本产品用于活细胞、固定细胞或组织、石蜡切片的细胞核染色，进行染色时需要注意防止细菌或真菌污染。如进行活细胞染色，建议使用无菌的器具，操作过程中要在生物安全柜中操作，穿实验服，戴一次性口罩和手套等防止菌污染，细菌或真菌污染会影响检测结果。

### 2. 染色结果不理想:

- ❖ 本产品是优化过的即用型 DAPI 染色液，一般情况下适用于大多数的固定细胞、石蜡切片等染色，若染色效果不佳可尝试延长孵育时间，或者选用本公司高浓度 1 mg / ml 的 DAPI 染料【*CytoDet* DAPI 染色液 ( Code No. AG51013 ) 】，提高 DAPI 染色液的浓度。
- ❖ 显微镜观察时出现荧光过强时，可尝试适当缩短孵育时间。
- ❖ 显微镜观察时出现除细胞核之外的其它未知染色，可能是清洗不彻底或细胞存在污染，可尝试增加洗涤次数或检测细胞中是否存在污染。