

Version 1

Code No. AG51013

CytoDet DAPI 染色液

CytoDet DAPI Solution

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 稀释至合适的浓度, 加入至样本中, 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。本产品浓度为 1 mg/ml, 使用时可稀释到需要的工作浓度, 一般推荐 DAPI 工作浓度为 0.5~10 $\mu\text{g/ml}$ 。此外, 本公司还提供即用型的产品 *CytoDet* DAPI 染色液 (即用型) (Code No.AG51014 / AG51016), 浓度经过优化, 可以直接使用, 无需稀释。

➤ 产品组成

组分名称	AG51013
DAPI Solution (1 mg / ml)	1 ml

➤ 保存及运输

保存温度: -20°C 避光保存

运输温度: -20°C 冰袋运输

➤ 产品优势

1. 本产品为 1 mg/ml 的高浓度溶液, 使用时可根据需要调整至不同的工作浓度, 用于固定细胞核染色时, 推荐 DAPI 工作浓度为 0.5~10 $\mu\text{g/ml}$ 。
2. 实验操作简单, 仅需将染色工作液加入至细胞, 染色 5~20min 即可观察到蓝色荧光, 染色性能稳定。
3. 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 $Ex = 364 \text{ nm}$ ， $Em = 454 \text{ nm}$ ）；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 需避光保存，实验过程中注意避光操作。
2. 初次实验，可尝试使用不同浓度工作液进行染色，摸索最佳染色液工作浓度。
3. 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。
4. 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. 配制 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ DAPI 染色工作液：例如向 1 ml PBS 中加入 $5 \mu\text{l}$ DAPI Solution（PBS : DAPI = 200 : 1），用移液器吹打混匀。【注：DAPI 的浓度可根据染色效果在 $0.5 \sim 10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内进行调整，若染色效果弱，可提高浓度；若染色效果过强，可降低浓度。】
3. 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 染色工作液，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 染色工作液，室温避光孵育 5 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。
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。

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. 配制 $5\ \mu\text{g} / \text{ml}$ DAPI 染色工作液：例如向 1 ml PBS 中加入 $5\ \mu\text{l}$ DAPI Solution (PBS : DAPI = 200 : 1)，用移液器吹打混匀。【注：DAPI 的浓度可根据染色效果在 $0.5 \sim 10\ \mu\text{g} / \text{ml}$ 范围内进行调整，若染色效果弱，可提高浓度；若染色效果过强，可降低浓度。】
4. 染色：加入适量 $5\ \mu\text{g} / \text{ml}$ DAPI 染色工作液，覆盖样本即可，室温避光孵育 5 min。
5. 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。】
6. 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. 对于细胞培养皿或细胞培养板中的活细胞或组织，可直接将 DAPI Solution 按照培养基 : DAPI = 200 : 1 的比例添加至培养基中【例如向 1 ml 培养基中加入 $5\ \mu\text{l}$ DAPI Solution，使 DAPI 终浓度为 $5\ \mu\text{g} / \text{ml}$ 】，用移液枪轻柔吹打混匀或前后左右晃动培养皿混匀。【注：DAPI 的浓度可根据染色效果在 $0.5 \sim 10\ \mu\text{g} / \text{ml}$ 范围内进行调整，若染色效果弱，可提高浓度；若染色效果过强，可降低浓度。低浓度 DAPI 不易穿透细胞膜，建议使用高浓度的溶液染色。】
2. 将培养皿或培养板放置于 37°C 细胞培养箱或室温孵育 10~20 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。
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。

➤ 实验例

1. 分别用适量的 4%多聚甲醛固定液室温固定 1×10^6 个 Jurkat 细胞和 12 孔板中的 3T3-L1 细胞，去除固定液后加入适量的 PBS 洗涤两遍，然后使用 $5 \mu\text{g/ml}$ 的 DAPI 染色工作液进行染色，结果如下图所示，细胞核呈现蓝色荧光。

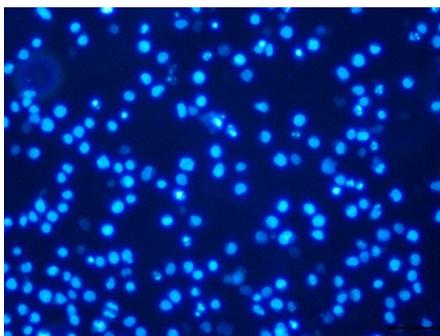


图 1: Jurkat 细胞染色图

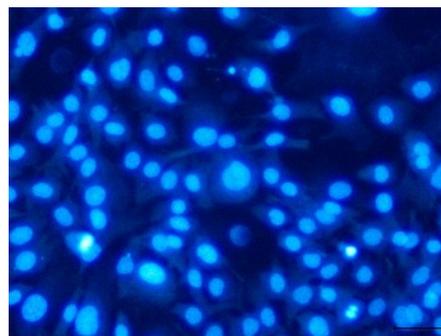


图 2: 3T3-L1 细胞染色图

2. 使用 $5 \mu\text{g/ml}$ 的 DAPI 染色工作液对小鼠肠石蜡切片进行染色，结果如下图所示，细胞核呈现蓝色荧光。

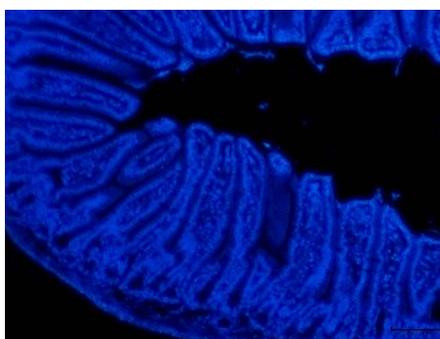


图 3: 小鼠肠石蜡切片染色图

▶ 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:

- ❖ 在初次实验时可先摸索染色工作液的最佳浓度，可在 0.5~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度范围内进行调整以获得最佳染色效果。
- ❖ 显微镜观察时出现荧光过强时，可尝试适当减少染色工作液浓度或缩短孵育时间。
- ❖ 显微镜观察时出现荧光过弱时，可尝试适当增加染色工作液浓度或延长孵育时间。同时，本产品为荧光染料，需要避光保存，避免荧光淬灭。
- ❖ 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。