



DAPI 染色液 (DAPI Stain Solution, 10 µg/ml)

● 产品组成:

组分货号	名称	规格	贮存
DA1023S	DAPI 染色溶液	10 ml	-20℃
	说明书	一份	

● 产品简介:

DAPI 染色液(DAPI Staining Solution)是适用于常见细胞和组织细胞核染色的染色液。DAPI 即 2-(4-Amidinophenyl)-6-indolecarbamide dihydrochloride, 也称 DAPI dihydrochloride, 分子式为 $C_{16}H_{15}N_5 \cdot 2HCl$, MW 为 350.25, CAS Number 28718-90-3。

DAPI 是一种可以穿透细胞膜的蓝色荧光染料, 它可以用于活细胞和固定细胞的染色。和 EB(ethidium bromide)相比, 对双链 DNA 的染色灵敏度要高很多倍, DAPI 和双链 DNA 结合后可以产生比 DAPI 自身强 20 多倍的荧光。DAPI 染色常用于细胞凋亡检测, 染色后用荧光显微镜观察或流式细胞仪检测。DAPI 也常用于普通的细胞核染色以及某些特定情况下的双链 DNA 染色。DAPI 的最大激发波长为 340nm, 最大发射波长为 488nm; DAPI 和双链 DNA 结合后, 最大激发波长为 364nm, 最大发射波长为 454nm。DAPI 的发射光为蓝色, 且 DAPI 和绿色荧光蛋白 GFP 或 Texas Red 染料(红色荧光染料)的发射波长仅有少部分重叠, 可以利用这项特性在单一的样品上进行多重荧光染色。

本 DAPI 染色液为即用型, 浓度为 10µg/ml, 可以直接用于固定细胞或组织的细胞核染色。

● 贮存:

-20℃避光保存, 一年有效。

● 操作步骤:

一 悬浮细胞染色

1.1 500 g (2400 rpm, 下同) 离心收集细胞样品于 1.5 ml 离心管内, 加入 0.5 ml 固定液(货号: KA5010, 卡诺固定液), 缓缓悬起细胞, 常温固定 10 分钟或更长时间(可 4℃过夜)。

1.2 离心去尽固定液, 用 PBS 洗两遍, 每次 3 分钟, 洗涤期间手动晃动数次。

1.3 细胞沉淀中加入 200 µl DAPI 染色液, 重悬细胞, 37℃避光染色 10-15 分钟, 手动晃动数次。

1.4 离心收集沉淀, 重悬于 100 µl 1×PBS 中。

1.5 取 5 µl 抗荧光淬灭封片液(货号: AM0510)于载玻片上, 加入等体积步骤 1.4 染色后细胞重悬液, 盖上一洁净的盖玻片, 尽量避免气泡。

1.6 荧光显微镜下紫外激发观察可检测到呈蓝色的细胞核。

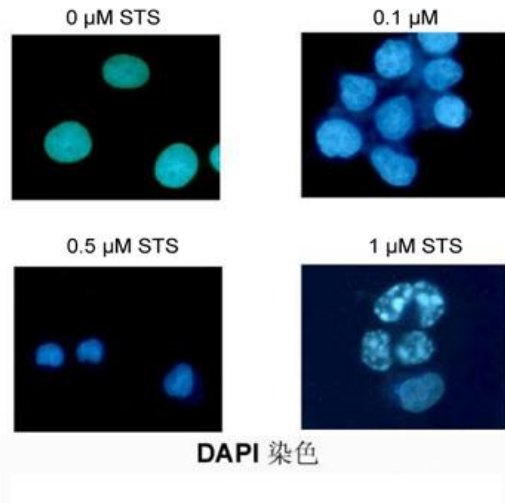
注: 荧光染料都存在淬灭的问题, 建议染色后尽快检测。

二 贴壁细胞染色

2.1 取洁净盖玻片在 70%乙醇中浸泡 5 分钟或更长时间, 无菌超净台内吹干或用无菌的 PBS 洗涤三遍, 再用细胞培养液洗涤一遍。将盖玻片置于六孔板内, 种入细胞培养过夜, 生长至 50%-80%满度。

- 2.2 刺激细胞发生凋亡后，吸尽培养液，加入 0.5 ml 固定液，固定 10 分钟或更长时间(可 4℃ 过夜)。
- 2.3 去尽固定液，用 PBS 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动晃动。
- 2.4 加入 0.5 ml DAPI 染色液，37℃ 避光染色 10-15 分钟，手动晃动数次。
- 2.5 去尽染色液，用 PBS 洗两遍，每次 3 分钟，吸尽液体。洗涤时宜用摇床或手动晃动。
- 2.6 滴一滴抗荧光淬灭封片液（货号：AM0510）于载玻片上，盖上贴有细胞的盖玻片，让细胞接触封片液，尽量避免气泡。
- 2.7 荧光显微镜下紫外激发观察可检测到呈蓝色的细胞核。
- 注：荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测。

● 实验示例：



操作流程：使用不同浓度星饱菌素（Staurosporine, STS）凋亡处理 Jurkat 细胞。调整细胞密度为 1×10^6 /ml，每孔 2 ml 接种于六孔板中；加入终浓度为 0, 0.1, 0.5, 1 μ M STS, 37℃ 5%CO₂ 培养 3 小时；500 g 3 min 收集细胞；细胞沉淀中加入 1 ml 固定液，常温固定 10 min；1×PBS 漂洗两次；细胞沉淀中加入 0.5 ml DAPI 染色液，37℃ 避光染色 10 min；离心后细胞沉淀重悬于 100 μ l 1×PBS 中；取 5 μ l 细胞悬液滴于载玻片上，加 5 μ l 抗荧光淬灭剂，封片观察。

凋亡细胞由于染色质固缩，细胞核呈致密浓染或碎块状致密浓染。细胞凋亡过程中细胞核染色质的形态学变化分三期：I 期的细胞核呈波纹状（rippled）或呈折缝样（creased）（0.1 μ M STS 处理），部分染色质出现浓缩状态（0.5 μ M STS 处理）。II a 期细胞核的染色质高度凝聚，边缘化；II b 期的细胞核裂解为碎块，产生凋亡小体（1 μ M STS 处理）。