



DAPI染色液（1mg/mL）说明书

货号：WGD-X-3100153

产品介绍

本公司生产的 DAPI 染色液（1 mg/mL）是一种经典的高灵敏度、高特异性的细胞核荧光染料，其主要成分为 4',6-联脒-2-苯基吡啶二盐酸盐（DAPI）。与同为核酸染料的碘化丙啶（PI）相比，DAPI 通过与双链 DNA 中富含 AT 序列的小沟结合，在激发光下产生强烈的蓝色荧光。DAPI 的灵敏度与信噪比相对更高，尤其适合低丰度 DNA 检测（如线粒体 DNA 或微量核酸）。DAPI 在水溶液中的最大激发/发射波长是 340/488 nm，当与双链 DNA（dsDNA）结合后，产生相对较大的斯托克司频移（~103 nm），荧光信号明显放大约 20 倍，从而使其最大激发/发射波长转变为 358/461 nm。

此外，DAPI 染色液作为一种细胞膜渗透性极差的荧光染料，只能通过细胞膜的破损区域或者在较高浓度（通常 $\geq 10 \mu\text{g/mL}$ ）和长时间孵育（ >30 分钟）条件下才能进入活细胞内，因此不能用于区分活、死细胞。其广泛适用于基于流式细胞术、荧光显微镜等实验技术下的核定位与形态分析、细胞凋亡检测、微生物计数、细胞周期分析及细胞膜完整性鉴定等。

本产品是 DAPI 的水溶液，浓度为 1 mg/mL，只需用合适的缓冲液稀释到工作液即可。DAPI 染色时可用 355nm 激发光激发；亦可用 405 nm 激发光代替，但其信号强度约为 355 nm 激发的 60-80%，需适当延长曝光时间。

产品目录

产品名称	规格
DAPI 染色液（1mg/mL）	1 mL

产品组成

组分	含量
DAPI 染色液（1mg/mL）	1 mL

产品用途

本产品适用于基于流式细胞术、荧光显微镜等实验技术下的核定位与形态分析、细胞凋亡检测、微生物计数、细胞周期分析及细胞膜完整性鉴定等。

产品特点

- 1. 纯度高：DAPI 纯度 $\geq 99\%$ ，确保更低杂质干扰，染色结果稳定可靠。
- 2. 操作简便：本产品为水溶液，可直接使用或按实验需求稀释，操作便捷。
- 3. 灵敏度高：可检测微量 DNA，适用于线粒体 DNA 等低丰度核酸样本。
- 4. 荧光稳定：结合 dsDNA 后荧光信号增强约 20 倍，信噪比和抗光漂白性优于 Hoechst 及 PI 染料。
- 5. 适用范围广：适用于哺乳动物、植物细胞及细菌的核酸染色，兼容流式细胞术、荧光显微镜等多种检测平台。

注意事项

- 1. 早期凋亡时细胞膜未破裂，DAPI 无法进入，染色后细胞核呈阴性，因此本产品不适用于区分早期凋亡与健康细胞。
- 2. 荧光染料均存在淬灭问题，应尽量避免光，以减缓荧光淬灭。
- 3. DAPI（蓝）与其他染料（如 FITC、TRITC）联用时，最后染 DAPI 以减少通道串扰。
- 4. 避免反复冻融，建议 50~100 μL /管分装保存。



5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴口罩与一次性手套操作。
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

操作步骤

1. 贴壁细胞复染步骤：

- 1.1 DAPI 染色工作液配制：根据不同实验要求，选择无菌水、PBS 缓冲液或培养基等溶液稀释 DAPI 染色液（1mg/mL），配制成 0.1~5 $\mu\text{g/mL}$ 的 DAPI 染色工作液。
- 1.2 固定：选择合适的步骤固定并通透细胞。DAPI 染色一般在其它染色完成后进行。
- 1.3 染色：加入 200 μL 染色工作液，轻轻晃动使其完全覆盖细胞，室温避光孵育 5~15 分钟。
- 1.4 洗涤：吸去染色工作液，用 PBS 或培养基洗涤 2~3 次，每次 3~5 分钟。
- 1.5 观察：选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。
- 注：若需要用流式细胞仪检测，需将细胞用胰蛋白酶消化重悬后再进行染色，可参考悬浮细胞复染步骤。

2. 悬浮细胞复染步骤：

- 2.1 DAPI 染色工作液配制：根据不同实验要求，选择无菌水、PBS 缓冲液或培养基等溶液稀释 DAPI 染色液（1mg/mL），配制成 0.1~5 $\mu\text{g/mL}$ 的 DAPI 染色工作液。
- 2.2 洗涤：离心收集细胞，加入 PBS 洗涤 2~3 次，每次 3~5 分钟。
- 2.3 染色：每 1×10^6 个细胞加入 200 μL 染色工作液，室温避光孵育 5~15 分钟。
- 2.4 洗涤：离心，弃去上清，加入 PBS 洗涤细胞 2~3 次，每次 3~5 分钟。
- 2.5 观察：使用荧光显微镜或流式细胞仪观察染色结果。

3. 染色质 FISH 复染步骤：

- 3.1 DAPI 染色工作液配制：选择 PBS 缓冲液按 1:10000 稀释 DAPI 染色液（1mg/mL），配制成 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 的 DAPI 染色工作液。有必要的话，工作液内加入新鲜制备的 RNase A（终浓度：100 $\mu\text{g/mL}$ ）。
- 3.2 样本准备：根据标准步骤制备样本。
- 注：复染前使用 2 $\times$ SSC 缓冲液温和洗涤样本以去除玻片上残留的缓冲液。室温晾干。此步骤有助于减少非特异性背景。
- 3.3 染色：加入 20 μL 染色工作液，室温避光孵育 30 分钟；如果加入 RNase A 则 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育。
- 3.4 洗涤：去除盖玻片，用 2 $\times$ SSC 缓冲液清洗以除去没有结合的染料。
- 3.5 封片：用吸水纸围绕样本周围吸取残留液体，盖上玻璃盖玻片用石蜡或指甲油封住盖玻片边缘。也可用水溶性抗荧光淬灭封片剂进行封片。
- 3.6 观察：选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。
- 注：2 $\times$ SSC 配方：0.3M NaCl+0.03M $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，调节 pH 至 7.0 ± 0.2 。
- 不可用 PBS 缓冲液替代 2 $\times$ SSC 缓冲液。

应用场景	推荐浓度	染色时间	注意事项
细胞固定后核染	0.1~1 $\mu\text{g/mL}$	5~15 min	常规使用，背景低
活细胞（经过通透）	1~5 $\mu\text{g/mL}$	≤ 5 min	活细胞染色时间不超过 5 分钟（高浓度可能影响细胞活性）
流式细胞周期分析	0.5~1 $\mu\text{g/mL}$	15~30 min	必须 RNase A 处理
染色体观察	0.5~2 $\mu\text{g/mL}$	10~30 min	低渗处理优化
微生物计数	0.5~1 $\mu\text{g/mL}$	10 min	过滤去除游离染料

储存及运输条件

-25 ~ -15 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存 12 个月，冰袋运输。



常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
染色信号弱或无信号	DAPI 染色工作液浓度过低	调整 DAPI 工作浓度，建议进行预实验选择最适浓度
	孵育时间不足	避光条件下，延长孵育时间至 15~30 分钟