



DAPI染色液（即用型）说明书

货号：WGD-X-3100154

产品介绍

本公司生产的 DAPI 染色液（即用型）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 ≥10 μg/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。

本产品是溶于 PBS 的即用型 DAPI 染色工作液，已过滤除菌，可直接使用。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（即用型）	100 mL

产品组成

组分	含量
DAPI 染色液（即用型）	100 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 ≥99%，确保更低杂质干扰，染色结果稳定可靠。
- 2. 操作简便：本产品为溶于 PBS 的即用型 DAPI 染色工作液，已预先优化浓度，可直接使用，减少操作误差。
- 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 1 mL/管分装保存。



5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩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 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。
- 1.2 染色：加入 200 μ L DAPI 染色液（即用型），轻轻晃动使其完全覆盖细胞，室温避光孵育 5-15 分钟。
- 1.3 洗涤：吸去染色液，用 PBS 或培养基洗涤 2-3 次，每次 3-5 分钟。
- 1.4 观察：选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

2. 悬浮细胞复染步骤：

- 2.1 洗涤：离心收集细胞，加入 PBS 洗涤 2-3 次，每次 3-5 分钟。
- 2.2 染色：每 1×10^6 个细胞加入 200 μ L DAPI 染色液（即用型），室温避光孵育 5-15 分钟。
- 2.3 洗涤：离心，弃去上清，加入 PBS 洗涤细胞 2-3 次，每次 3-5 分钟。
- 2.4 观察：选择荧光显微镜的合适滤片进行观察。

3. 染色质 FISH 复染步骤：

3.1 DAPI 染色工作液配制：本产品为溶于 PBS 的即用型 DAPI 染色工作液，可直接使用。有必要的话，工作液内加入新鲜制备的 RNase A（终浓度：100 μ 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 μ L 染色工作液，室温避光孵育 30 分钟；如果加入 RNase A 则 37 $^{\circ}$ 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。

储存及运输条件

-25 ~ -15 $^{\circ}$ 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	样本未充分固定/透化	可根据实验目的选择合适的细胞固定剂和通透剂
	细胞数量过少或 DNA 降解	增加细胞密度或检查样本制备流程，注意核酸酶污染
	孵育时间不足	避光条件下，延长孵育时间至 15-30 分钟
背景过高/非特异性染色	样本残留 RNA	加入 RNase A，37 $^{\circ}$ C 孵育 30 分钟，以消除 RNA 干扰
	固定时间过长，存在固定剂残留	固定后使用 PBS 充分洗涤
	染色液污染或变质	更换新批次染色液，避免反复冻融或长期暴露于光照
染色后样本快速淬灭	封片剂不合适或封片时有气泡	使用抗荧光淬灭封片剂，并避光冷藏



细胞核形态模糊或染色不均	光照时间过长	降低荧光曝光时间
	过度固定导致核结构收缩 细胞通透程度不足	控制固定时间，建议细胞固定时间为 15-30 分钟 使用通透效果更佳的通透剂，或适当提高通透时间

