

产品组成:

规格	100 -200assays
DAPI 染色液	1ml
试剂 B	10ml

储存条件:

4℃避光保存。长期保存-20℃避光保存。

有效期:

六个月。

产品简介:

DAPI 染色试剂盒可用于细胞凋亡检测,也可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,染色后可用荧光显微镜检测或流式细胞仪检测。DAPI (diamidino-2-phenylindole) 能与双链 DNA 小槽,特别是 AT 碱基结合,也可插入少于 3 个连续 AT 碱基对的 DNA 序列中。当它与双链 DNA 结合时,荧光强度增强 20 倍,而与单链 DNA 结合则无荧光增强现象,因此是一种简易、快速和敏感地检测 DNA 的方法。DAPI 的荧光强度较 Hoechst 低,但荧光稳定性优于 Hoechst; 其特异性较溴化乙啶和碘化丙啶高。

使用方法:

- 染色后立即进行分析。
- 本染色液可用于石蜡切片、冰冻切片、细胞涂片、细胞的检测。石蜡切片用常规方法脱蜡、分化、冰冻切片用冰丙酮固定后检测。

以下以培养细胞的涂片的荧光显微镜检测为例,细胞染色也可不固定,其他方法请参阅相关资料。

1、染色工作液的配制:

根据样品数用 PBS 将 DAPI 染色液 20-100 倍稀释,配制成染色工作液。

2、细胞涂片的制备:

贴壁细胞,可将盖玻片放于培养器皿中,让培养细胞长于玻片上,然后用药物诱导细胞凋亡后取出,用 4%多聚甲醛固定 5min。也可其他方式培养后收集细胞制作涂片检测。

对于悬浮细胞,用药物诱导细胞凋亡后,1000-2000rpm 离心 5 分钟收集细胞,用 PBS 洗 2 次,收集调整细胞数为 1×10^5 /ml,涂片或用离心涂片,用 4%多聚甲醛固定 5min;

3、用 PBS 洗涤涂片两次。

4、加适量染色工作液于涂片上,室温避光染色 5-20 分钟。

5、用 10 倍稀释(用双蒸水稀释)的试剂 B 洗涤涂片。

6、用荧光显微镜检测结果。染料-DNA 复合物的最大激发波长为 360nm,最大发射波长为 454nm。

结果分析:

置于荧光显微镜下用 360nm 激发光观察结果: DAPI 染色呈蓝白色荧光。早期凋亡细胞呈现核浓缩,染色加深,或核染色质呈新月形聚集于核膜一边;晚期凋亡细胞表现为核碎裂成大小不等的圆形小体,并被细胞膜所包绕,即凋亡小体。