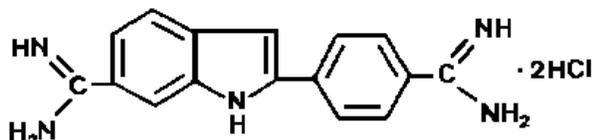


4',6-Diamidino-2-phenylindol • 2 HCl (DAPI)

Kat.-Nr. 18860



$C_{16}H_{15}N_5 \cdot 2 \cdot HCl$ - MG 350.3

$C_{16}H_{15}N_5$ - MG 277.4 79.2%

Absorptionsmaximum: 344 nm - Fluoreszenzmaximum: 449 nm

Eigenschaften

DAPI wurde ursprünglich von Dann u. Mitarbeitern (1) als mögliches Trypanocid synthetisiert. Später fanden Williamson und Fennell (2), daß es speziell mit Doppelstrang (ds)-DNA einen fluoreszierenden Komplex liefert, dessen Fluoreszenz bei 465 nm das 20fache des Heterocyclus selbst beträgt. Die vorzugsweise Bindung des Farbstoffes an A/T-reiche Sequenzen der DNA konnte ebenfalls nachgewiesen werden (3).

DAPI komplexiert nicht mit RNA und bildet einen viel schwächer fluoreszierenden Komplex mit Einzelstrang-DNA (4). Diese Eigenschaft wurde zur selektiven Anfärbung von ds -DNA in Elektrophorese-Gelen genutzt (5).

Verwendung

Als A/T-spezifische DNA-Sonde wurde DAPI zur Sichtbarmachung von Mitochondrien-DNA aus Hefe (3) und Chloroplasten-DNA (6) verwendet; ebenso zur Unterscheidung zwischen vitalen und abgestorbenen *Schistosoma mansoni* (7) sowie zum Nachweis von Malaria-Infektionen mittels Fluoreszenzmikroskopie (12). Weitere Anwendungen betreffen die Fluorimetrie alkalibehandelter DNA aus menschlicher Epidermis (8), die Reinigung mitochondrialer DNA aus Brassica-Arten durch CsCl/DAPI-Gradientenzentrifugation (9), die Cytofluorimetrie von Zellkern-DNA in lebenden und konservierten Algen (10). Ebenfalls gelingt die Quantifizierung sehr geringer Anteile von DNA-Strangbrüchen und DNA-Superhelices (11). Dank der starken Fluoreszenz der DAPI/DNA Komplexe gelang auch die quantitative Bestimmung von Zell-DNA im Picogramm-Bereich (13).

DAPI ist zum Nachweis von Mykoplasma-Verunreinigungen in der Zellkultur verwendet worden (4).

Auf Objektträgern gezüchtete Zellen werden mit einer DAPI-Lösung (0,1 µg/ml 13 - 30 min bei 37 °C behandelt und anschließend im Fluoreszenz-Mikroskop untersucht.

Stabilität

DAPI-Lösungen (Wasserlöslichkeit ca. 25 mg/ml) können bei + 4 °C wochenlang ohne Befall durch Mikroorganismen aufbewahrt werden. Trübe Lösungen signalisieren beginnende Hydrolyse. Mehrwertige Anionen wie Sulfat oder Phosphat können in hohen Konzentrationen die weniger löslichen Amidinium-Salze dieser Anionen ausfällen.

Literatur

- 1: Dann, O. et al. (1971) Justus Liebigs Ann. Chem. **749**, 68-89
- 2: Williamson, D.H. & Fennell, D.J. (1975) Methods Cell Biol. **12**, 335-51
- 3: Williamson, D.H. & Fennell, D.J. (1979) Methods Enzymol. **56**, 728-33
- 4: Kapuscinski J. & Skoczylas, B. (1977) Anal. Biochem. **83**, 252-7
- 5: Kapuscinski, J. & Yanagi, K. (1979) Nucleic Acids Res. **6**, 3535-42
- 6: Birky, C. et al. (1984) Curr. Genet **8**, 1 -7
- 7: Van der Linden, P.W.G. & Deelder, A.M. (1984) Exp. Parasitol. **57**, 125-31
- 8: Meyer, J.C. & Grundmann, H. (1984) Arch. Dermatol. Res. **276**, 52-6
- 9: Vedel, F. & Mathieu, C. (1982) Anal. Biochem. **127**, 1-8
- 10: Hull, H.M. et al. (1982) Stain Technol. **57**, 273-82
- 11: Lipetz, P.D. et al. (1982) Anal. Biochem. **121**, 339-48
- 12: Hyman, B.C. & Macinnis, A.J. (1979) J. Parasitol. **65**, 421-5
- 13: Lee, G.M. et al. (1984) Anal. Biochem. **137**, 221-6
- 14: Russell, W.C. et al. (1975) Nature **253**, 461-2