

活细菌/死细菌染色试剂盒

货号: EX3000

保存: -20℃避光保存, 有效期 6 个月。

产品内容:

试剂盒组份	20T	100T
试剂 A: NucGreen	20 μ L	100 μ L
试剂 B: EthD-III	40 μ L	200 μ L

产品简介:

试剂盒包含两种荧光染料, NucGreen 是绿色核酸染料, 可染色活细菌和死细菌; EthD-III 是红色核酸染料, 仅染色细胞膜受损的死细菌。将 NucGreen 和 EthD-III 共同使用, 具有鉴别细菌死活的能力。完整细胞膜的细菌呈现绿色, 而具有受损细胞膜的细菌在不同通道下可分别呈现绿色和红色。

细菌活力的常见标准是在合适的营养培养基中繁殖的能力, 称为生长测定。本试剂盒通常与在液体或固体培养基中的生长测定结果有着很好的一致性。但, 在某些条件下, 膜损伤的细菌可能会在营养培养基中恢复并繁殖, 而这种细菌在本测定中会被认定死菌。相反, 一些具有完整膜的细菌可能无法在营养培养基中繁殖, 但在本测定中会被认定活菌。因此, 若本试剂盒检测结果和细菌生长测定之间有较大的差异, 应考虑上述可能。

光谱特性:

NucGreen: Ex/Em: 503/530 nm (结合 DNA)

EthD-III: Ex/Em: 530/620 nm (结合 DNA)

产品使用 (仅供参考):

以 *Esc.coli* 为例荧光镜检

- (1) 在合适的液体培养基中培养细菌至对数生长晚期。
- (2) 向 EP 管中加入 1mL 的菌液, 5,000g 离心 15 min。
- (3) 去除上清液, 加入 1mL 的 0.85% NaCl 溶液重悬细菌。
- (4) 5,000g 离心 15 min, 去除上清, 加入 1mL 的 0.85% NaCl 溶液重悬细菌。重复一次。
- (5) 将菌悬液密度调整到 10^8 个细菌/mL ($OD_{670} \approx 0.03$)。
- (6) 配制染色工作液: 取 1 μ L 的 NucGreen 和 2 μ L 的 EthD-III, 充分混匀后, 加入 8 μ L 的 0.85% NaCl 溶液。
- (7) 取 1mL 菌悬液, 加 10 μ L 的染色工作液。充分混合, 室温避光孵育 15 min。
- (8) 染色结束后, 取 10 μ L 菌悬液滴加在洁净的载玻片上, 盖玻片压片后尽快观察拍照, 避免干片后荧光猝灭。

- (9) 荧光显微镜成像：绿色荧光可使用 FITC 适用滤光片观察，红色荧光可使用 PI 适用滤光片观察。

注意事项

- (1) 若使用孔板检测，可静置 10 min 后留少量菌液成像，能有效降低背景。
- (2) 为更接近真实结果，Merge 图片时建议保持红色荧光与绿色荧光亮度一致。
- (3) 在对细菌染色之前，必须注意除去生长介质的残留。核酸和其他培养基组分可能会以某种方式结合染料，导致不可接受的染色变化。不建议使用磷酸盐（PBS）缓冲液，以免降低染色效率。
- (4) 正式实验前应依据不同菌株适当调整染料用量及浓度。一般最好使用能够提供充足信号的最低染料浓度。
- (5) 本产品仅用于科研。