

Product Manual

产品说明书

产品货号

PR01547

产品介绍

通用款活死细菌细胞活力检测试剂盒 (SYTO Live™ 9, PI) 本试剂盒专为细菌活力检测设计, 操作简便, 核心采用 SYTO Live™ 9 绿色核酸染料与碘化丙啶 (PI) 红色核酸染料, 基于细胞膜完整性差异实现活菌 / 死菌精准区分: SYTO Live™ 9 可染色所有细菌, PI 仅能进入细胞膜破损的死菌。在死菌中, SYTO Live™ 9 与 PI 发生荧光能量转移, 其绿色荧光被淬灭, 因此死菌不显示绿色荧光。相比传统方法受菌种代谢特性限制、背景荧光高、适用范围窄等问题, 本试剂盒不受细菌生长及染色条件严格限制, 15 分钟内即可完成各类细菌的快速、可靠活菌 / 死菌定量检测。试剂盒独立分装 SYTO Live™ 9 与 PI 溶液, 可按需灵活调整染料配比, 便于荧光定量校准, 适配不同实验环境, 获得更佳染色效果, 结果准确、重复性高。

储运条件

-20 °C 避光保存, 冰袋运输

产品特点

染色效率高: 可快速定量区分不同类型细菌中的活菌与死菌;

高通量检测: 可满足大批量样本的规模化、高通量检测需求, 适配批量实验场景。

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底, 再进行后续实验。
2. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
3. 产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
4. 为了您的安全和健康, 请遵循您所在常规实验室安全规定。

操作步骤

1. 收集与洗涤细菌:

- (1) 将细菌悬液置于离心管中, 10000× g 离心 10 min, 小心吸弃上清液, 取 0.85% NaCl 溶液重悬。
- (2) 用 0.85% NaCl 溶液洗涤细菌悬液 1-2 次, 操作同上。

注: 细菌悬液洗涤过程中, 不建议使用磷酸盐缓冲液。

2. 制备死细菌悬液:

- (1) 将细菌悬液置于离心管中, 于 95 °C 水浴锅 5 min, 获得死细菌悬液。
- (2) 可按照所需实验目的, 按比例混合活死细菌。

注: 本方法为灭活处理参考方案, 仅供参考, 实际可根据研究需求调整。

3. 细菌重悬与计数:

- (1) 取菌液测定 670 nm 的光密度 (OD₆₇₀)。
- (2) 使用 0.85% NaCl 溶液将细菌悬液稀释 OD₆₇₀ 到 0.03-0.15 左右。

注: 可根据样本种类与实验条件灵活调整, 以显微镜下视野中细菌分布清晰可辨为宜。

4. 细菌染色:

- (1) 在离心管内, 将组分 A (SYTO Live™ 9/PI Dye Mixture 1) 和组分 B (SYTO Live™ 9/PI Dye Mixture 2) 按 1:1 的体积比混匀得到染料混合液。

(2) 取 1 mL 细菌悬液, 加入 3 μ L 上述染料混合液, 轻柔混匀。

(3) 室温避光孵育 15 min (孵育时间可根据预实验结果优化)。

注: 特殊情况下, 若特殊菌株染色效果不佳, 可通过查阅文献优化实验步骤进行优化。

5. 收集与重悬:

(1) 孵育结束后, 10000 \times g 离心 10 min, 收集细菌。

(2) 小心吸弃含染料的上清液 (此为废液, 需妥善处理)。

(3) 用 400 μ L 0.85% NaCl 溶液重悬细菌, 制成待测样品。

6. 显微镜观察与拍照:

(1) 载玻片法: 取 5 μ L 细菌悬液滴加于洁净载玻片上, 轻轻盖上盖玻片, 避免产生气泡, 置于荧光显微镜下观察。