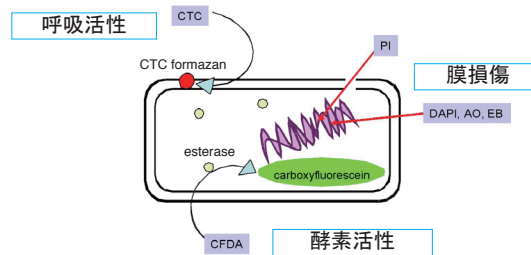


はじめに

-Bacstain- series は細菌用の蛍光染色試薬群です。異なる3つの手法（下図）から菌の生存率を求める事ができます。DAPIはDNAのAT配列に特異的なminor groove binderです。菌染色において汎用され、膜損傷の有・無に関わらず、細胞内へ透過し核酸を染色します。-Bacstain- DAPI solution は溶液タイプのため、試薬調製の手間無く使用できます。



キット内容

DAPI 水溶液 (25 μ l \times 4, 濃度 : 1 mg/ml)

保存条件

0-5°Cにて保存して下さい。

キット以外に必要な物

- 蛍光顕微鏡 (UV excitation filter, blue emission filter)
- または Flow cytometer (UV excitation, blue emission filter)
- マイクロピペット (20 μ l, 1,000 μ l)

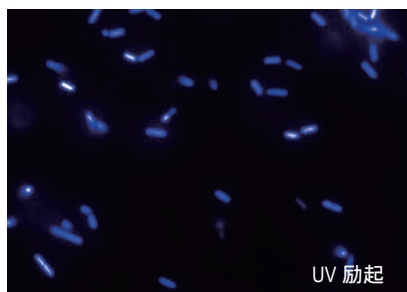
使用上の注意

- 本キットには溶液の入ったマイクロチューブのコンポーネントが含まれています。チューブ内壁やキャップに溶液が付着している事がありますので、開封前に振り落としてからご使用ください。

染色手順

1. 冷蔵された DAPI 溶液を室温に戻すため、室温にて 30 分間静置する。この際、遮光を行なうこと。^{a)}
2. 菌を PBS(-) もしくは生理食塩水に懸濁し、細胞密度を調整する。
10⁶ cells/ml (flow cytometry) 10⁸-10⁹ cells/ml (microscopy)
3. 細胞懸濁液 1 ml に対し、DAPI 溶液 1 μ l を加えよく混合する。
4. 室温にて 5 分間インキュベートする。その後、必要であればホルマリン固定 (1-4%) を行なう。
5. フローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡で観察する。

a) DAPI は変異原性が疑われるため、操作及び廃棄には注意が必要である。



左 : 蛍光像
右 : 明視野像

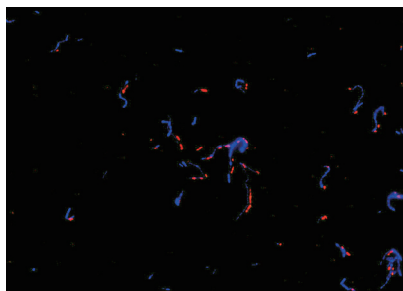
DAPI 染色した *B. cereus*

アッセイ数

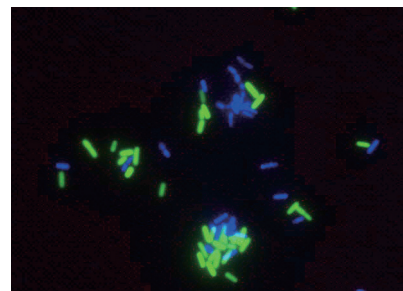
本マニュアルに準じた場合、約 100 検体分の測定が可能です。

二重染色例

DAPI を -Bacstain- CTC Rapid Staining Kit または -Bacstain- CFDA solution と組み合わせる事で二重染色(呼吸活性 / 全菌、エステラーゼ活性 / 全菌) が可能です。



-Bacstain- CTC Rapid Staining Kit で染色後、DAPI で全菌染色した。(*L. casei*)



-Bacstain- CFDA solution で染色後、DAPI で全菌染色した。(*B. cereus*)

-Bacstain- CTC Rapid Staining Kit (for Flow cytometry)

-Bacstain- CTC Rapid Staining Kit (for Microscopy)

CTC は菌の呼吸活性により還元を受け、蛍光性 formazan を生成します。生菌に選択的な蛍光色素として、多く用いられています。

-Bacstain- CTC Rapid Staining Kit はエンハンサーの効果により、従来の CTC 染色をより迅速・高感度にてできるキットです。

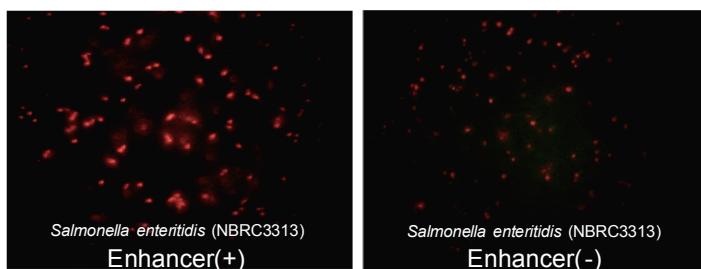


写真 (右) : Enhancing reagent なし
写真 (左) : Enhancing reagent あり

励起フィルター : B 励起

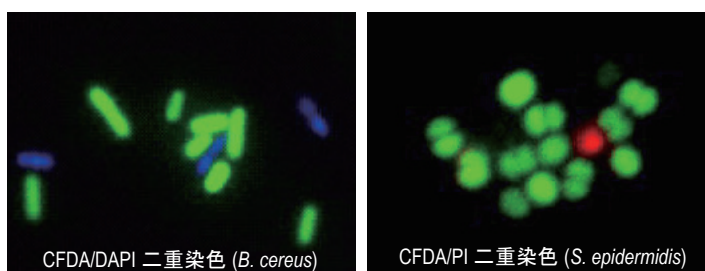
Enhancing reagent の添加により CTC 染色能が大きく向上します。

-Bacstain- CFDA solution

CFDA はエステラーゼ活性により蛍光を発する色素として、菌染色で広く用いられています。

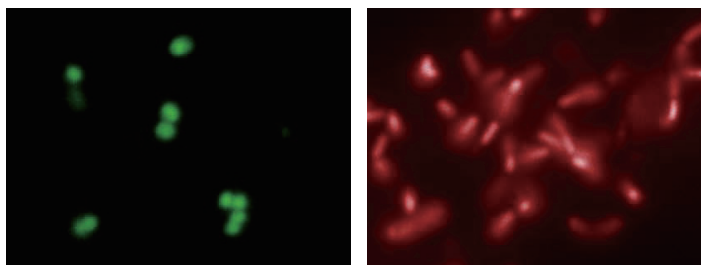
-Bacstain- CFDA solution は CFDA を DMSO 溶液としていますので、調製の手間無くご使用頂けます。

CFDA はそれ自体では蛍光を持ちませんが、細胞内に存在するエステラーゼにより蛍光性のカルボキシフルオレセインとなります。



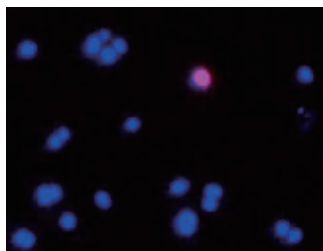
-Bacstain- AO solution, EB solution

AO 及び EB は核酸染色試薬として頻用されます。膜損傷の有・無に関わらず細胞内に透過し、核酸を染色します。



-Bacstain- PI solution

PI は損傷した膜をもつ細胞にのみ透過し、核酸を染色します。



DAPI/PI による *S. epidermidis* の二重染色
赤い蛍光を発しているのが膜損傷菌です。

Products	Code	Maximum Ex/Em(nm)	Number of assays
CTC Rapid Staining Kit (for Flow cytometry)	BS01	430, 480/630	100
CTC Rapid Staining Kit (for Microscopy)	BS02	430, 480/630	100
CFDA solution	BS03	493/515	100
DAPI solution	BS04	360/460	100
AO solution	BS05	420-460/630-650(ssDNA)	100
		500/520(dsDNA)	
EB solution	BS06	520-525/615	100
PI solution	BS07	530/620	100

これらは福岡県工業技術センター生物食品研究所との共同開発製品です。

ご質問・ご要望は下記までお問い合わせください。

DOJINDO 株式会社同仁化学研究所
 熊本県上益城郡益城町田原 2025-5
 熊本テクノリサーチパーク 〒 861-2202
 Tel:096-286-1515 (代表) Fax:096-286-1525
 E-mail: info@dojindo.co.jp URL: www.dojindo.co.jp

ドージン・イースト (東京)
 東京都港区芝大門2-1-17 朝川ビル 7F 〒 105-0012
 Tel: 03-3578-9651 (代表) Fax: 03-3578-9650
 フリーダイヤル : 0120-489548
 フリーファックス : 0120-021557