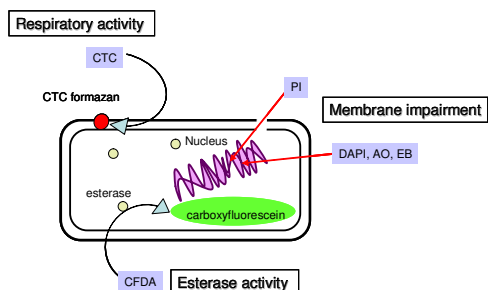
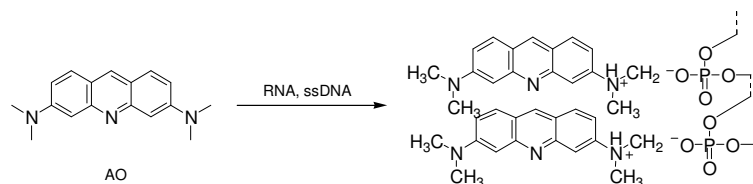


はじめに

-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。



Acridine orange (AO) は環境微生物の研究分野において、存在する菌をを計数するために用いられてきました。AOは dsDNA と結合して緑色の蛍光（λ ex 502 nm, λ em 526 nm）を発し、ssDNA や RNA と結合した際は赤色の蛍光（λ ex 460 nm, λ em 650 nm）を発します。



Mechanism of RNA and ssDNA Staining

キット組成

AO 水溶液 (75 μL × 4本, 濃度 : 1 mg/ mL)

保存条件

ご使用時以外は-20℃以下で保存して下さい。

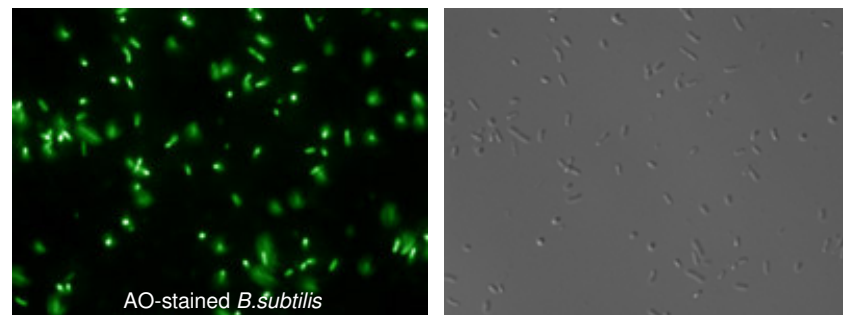
キット以外に必要なもの

- Flow cytometer (488 nm laser, green emission filter, red emission filter)
- 蛍光顕微鏡 (blue emission filter, green emission filter, red emission filter)
- マイクロピペット (20 μL, 1000 μL)

染色手順

1. 冷凍されたAO 溶液を室温にて30分間静置し融解する。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。
10⁸cells/mL(flow cytometry) 10⁸-10⁹cells/mL(microscopy)
3. 細胞懸濁液1 mLに対し、AO 溶液 3 μLを加え良く混合する。
4. 室温にて5 分間インキュベーションする。
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) AO 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。



アッセイ数

本マニュアルに準じた場合、100 検体分の測定が可能です。

参考文献

- 1) J.E.Hobbie *et al.* "Use of Nucleopore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy", *Appl. Environ. Microbiol.*, May **1977**, p. 1225-1228.
- 2) S.F.Nishino, "Direct Acridine Orange Counting of Bacteria Preserved with Acidified Lugol Iodine", *Appl. Environ. Microbiol.*, Sept. **1986**, p.602-604.

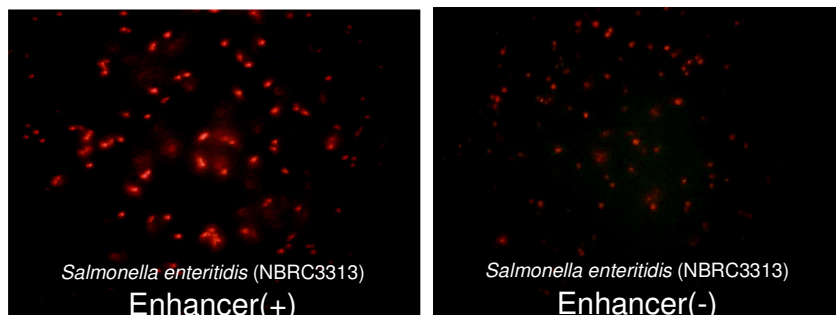
関連製品

-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、多くの研究者により用いられています。

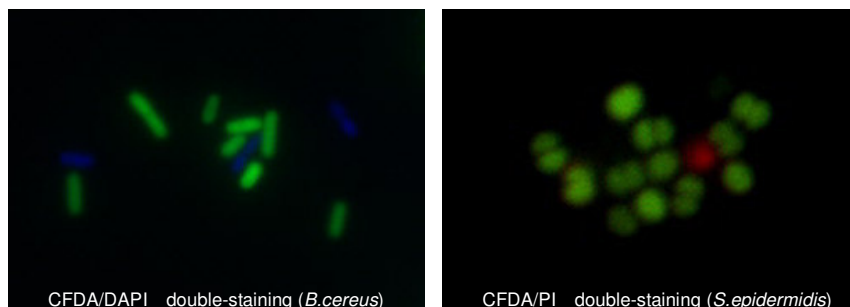
-Bacstain- CTC Rapid Staining Kitはエンハンサーの効果により、従来のCTC染色をより迅速・高感度に行えるキットです。



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

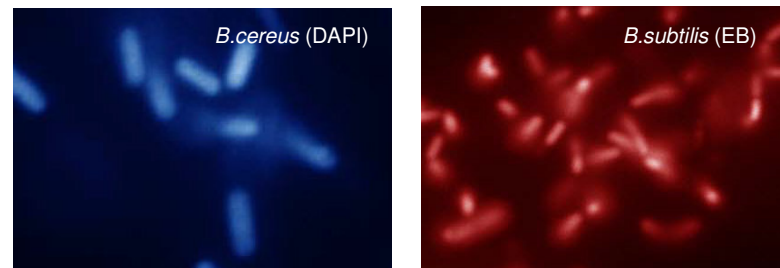
-Bacstain- CFDA solution

CFDAは細胞内エステラーゼ活性を求める色素として、菌染色で広く用いられています。CFDAはそれ自体では蛍光を持ちませんが、細胞内でエステラーゼにより分解され蛍光性のカルボカルボキシフルオレセイン(λem 515 nm)となります。-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。



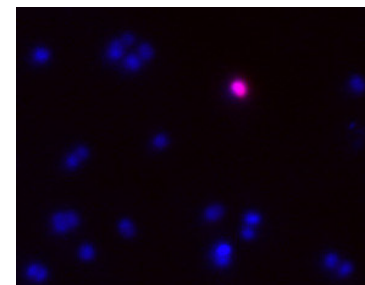
-Bacstain- DAPI solution, EB solution

DAPI及びEBは核酸染色試薬として汎用されます。膜損傷の有・無にかかわらず、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。

Product Names	Code	Maximum Ex/Em (nm)	Content
CTC Rapid Staining Kit for Flow cytometry	BS01	450,480/630	100 assays
CTC Rapid Staining Kit for Microscopy	BS02	450,480/630	100 assays
CFDA solution	BS03	493/515	100 assays
DAPI solution	BS04	360/460	100 assays
AO solution	BS05	420-460/630-650 (ssDNA) 500/520 (dsDNA)	100 assays
EB solution	BS06	520-525/615	100 assays
PI solution	BS07	530/620	100 assays

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。