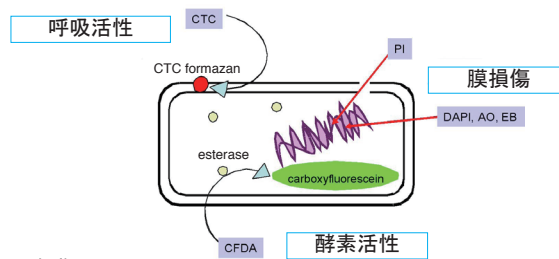


はじめに

-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。Propidium iodide (PI) は Ethidium bromide (EB) の類似体であり、二本鎖のDNAに intercalate して赤い蛍光を発します。PI は正常な膜をもつ細胞内には透過せず、損傷した膜を持つ細胞にのみ細胞膜を透過し核酸を染色します。このことから、CFDA のような生菌に選択的な蛍光色素との同時染色に用いられます。



キット内容

PI 溶液 (25 μ l \times 4、濃度：1 mg/ml)

保存条件

-20°C 以下で保存して下さい。

キット以外に必要な物

- 蛍光顕微鏡 (blue or green excitation light, red emission filter)
- または Flow cytometer (488 nm or 533 nm laser, red 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ことがありますので、開封前に振り落としてからご使用ください。

染色手順

1. 凍結した PI 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。
10⁶ cells/ml (flow cytometry) 10⁸-10⁹ cells/ml (microscopy)
3. 細胞懸濁液 1 ml に対し、PI 溶液 1 μ l を加え良く混合する。
4. 室温にて 5 分間インキュベートする。
5. フローサイトメーターまたは蛍光顕微鏡で観察する。

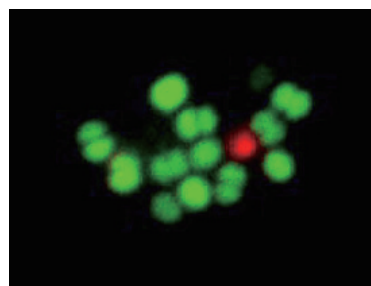
a) PI は変異原性が疑われるため、操作及び廃棄には注意が必要である。

アッセイ数

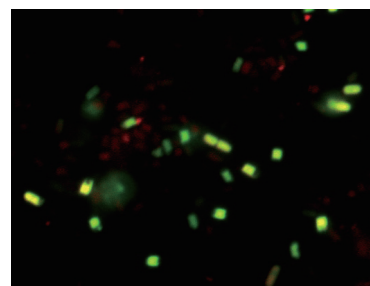
本マニュアルに準じた場合、約 100 検体分の測定が可能です。

二重染色例

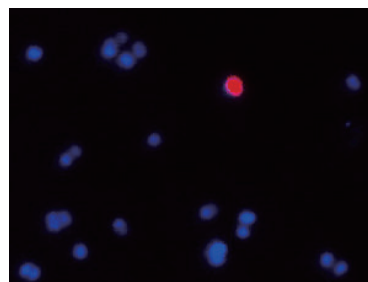
-Bacstain- CFDA solution や -Bacstain- DAPI solution との二重染色実験が可能です。



S. epidermidis の二重染色画像
(CFDA / PI)



E. coli の二重染色画像
(CFDA / PI)



S. epidermidis の二重染色画像
(DAPI / PI)

参考文献

- 1) N. Yamaguchi and M. Nasu, " Flow cytometric analysis of bacterial respiratory enzymatic activity in the natural aquatic environment ", *J. Appl. Microbiol.*, **1997**, *83*, 43.

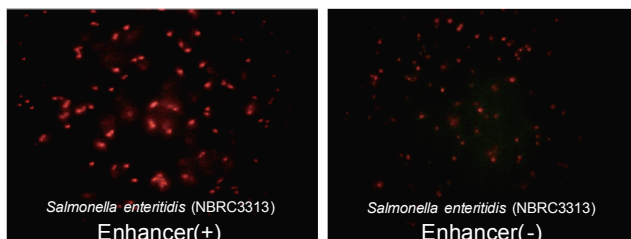
関連製品

-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。



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

励起フィルター: B 励起

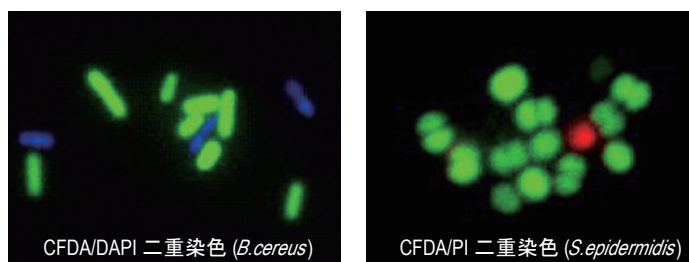
Enhancing reagent の添加により CTC 染色能が大きく向上します。

-Bacstain- CFDA solution

CFDA はエステラーゼ活性を求める色素として、菌染色で広く用いられています。

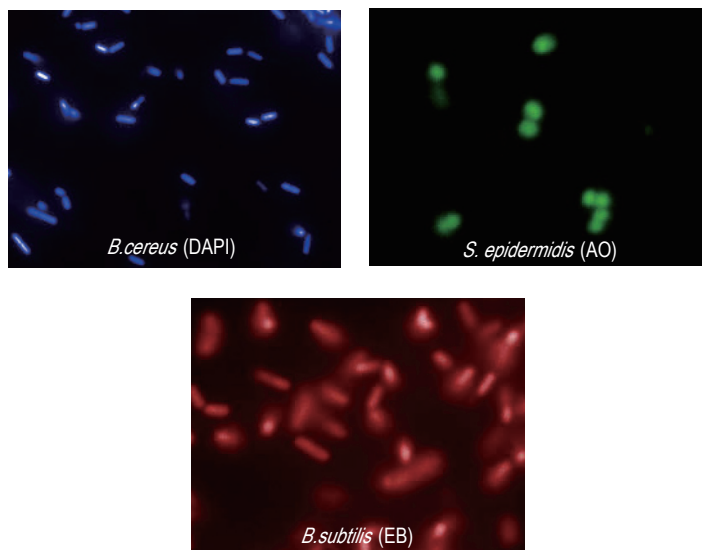
-Bacstain- CFDA solution は CFDA を DMSO 溶液としていますので、調製の手間無くご使用頂けます。

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- DAPI solution , AO solution , EB solution

DAPI ,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。



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

BS07: -Bacstain- PI solution