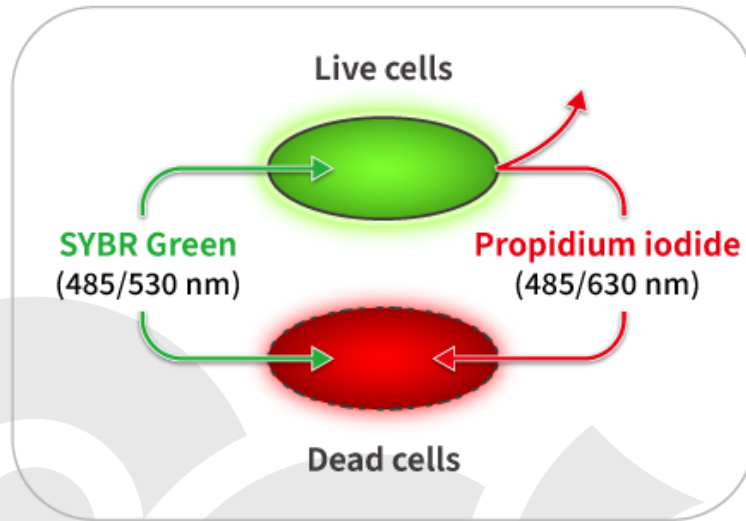


Micro-Stain™ Bacterial Live/Dead Staining Kit (Fluorometric)

MS-BS1000, 1000 tests

제품 원리



BIOMAX사의 Micro-Stain™ Bacterial Live/Dead Staining kit는 핵산 염색제 중 녹색 형광을 방출하는 SYBR Green과 적색 형광을 방출하는 Propidium Iodide을 혼합하여 사용합니다. SYBR Green은 단독으로 사용할 경우 모든 박테리아의 DNA에 결합하여 강한 녹색 형광을 띄게 됩니다. 반면 Propidium Iodide는 세포막이 손상된 박테리아의 DNA에 결합하여 강한 적색 형광을 띄며, 두 염색제가 모두 존재할 때는 상호작용에 의해 SYBR Green 염색제 형광이 감소합니다. 따라서 SYBR Green과 Propidium Iodide 염색제를 적절히 혼합하면 세포막이 손상되지 않은 박테리아는 녹색 형광, 세포막이 손상된 박테리아는 적색 형광을 띄게 됩니다. SYBR Green의 경우 485/530 nm, propidium iodide의 경우 485/630 nm에서 형광 현미경 등으로 관찰됩니다. 본 제품에서 사용되는 염료는 두 가지 용액 별도로 제공되어 사용자가 다양한 염색조건으로 유연하게 사용할 수 있으며 때로는 다른 염료와의 조합도 가능합니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	Size	Storage
SYBR Green solution, 3.34 mM	200 ul	-20°C
PI solution, 20 mM	200 ul	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 -20°C 보관 시 약 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ Fluorescence microscope / Fluorometric microplate reader / Flow Cytometry
- ▶ Vortexer / Centrifuge
- ▶ Tissue culture-treated 96well microwell plate, Dark clear-bottomed
- ▶ Pipette & Sterile tips / Microtube
- ▶ Slide glass / cover glass
- ▶ PBS (or 0.85% NaCl)
- ▶ Pure Isopropyl alcohol

실험 전 준비 사항

- ▶ 제품의 모든 구성품은 상온에서 완전히 녹인 후 사용합니다.
- ▶ vial 뚜껑 내부에 시약이 묻어 있을 수 있으니 개봉 전 원심분리 합니다.
- ▶ 빛이 차단된 상태로 보관합니다.

실험 과정

- 각 구성품은 사용 후 소량 Aliquot하여 -20 °C에 보관합니다.
- 최적의 염색 농도 및 시간은 균주에 따라 다를 수 있습니다.

For Microscopy

- ① Log phase의 박테리아 현탁액을 준비합니다.
- ② Saline을 이용해 2×10^8 cells/ml로 재현탁합니다.
 - (Optional) Dead cell control 준비 : 필요 시, 70 % Isopropyl alcohol을 사용하여 negative control을 준비합니다. 실온에서 30-60분간 배양 후 Saline을 이용해 2회 세척합니다.
- ③ 2x staining solution을 필요한 만큼 준비합니다.
 - 예) sample 수(10) = SYBR Green solution 1.65 μ l + PI 1.65 μ l + Saline 546.7 μ l
- ④ 균주 50 μ l를 microtube에 넣고 2x staining solution 50 μ l를 첨가하고 가볍게 vortex 합니다.
(Final conc. SYBR Green 5 μ M, PI 30 μ M)
- ⑤ 빛을 차단한 후 실온에서 30분 동안 배양합니다.
- ⑥ 원심분리 후 Saline을 이용해 재현탁합니다.
- ⑦ 염색된 박테리아 현탁액 5 μ l를 slide와 coverslip 사이에 로딩 후 형광 현미경(FITC, TRITC filter)으로 관찰합니다.

For Microplate Assay

- ① Log phase의 박테리아 현탁액을 준비합니다.
- ② Saline을 이용해 2×10^8 cells/ml로 재현탁합니다.
 - Dead cell control 준비 : 필요 시, 70 % Isopropyl alcohol을 사용하여 negative control을 준비합니다. 실온에서 30-60분간 배양 후 Saline을 이용해 2회 세척합니다.
- ③ Live cell과 Dead cell을 다양한 비율(예; 0:100, 10:90, 50:50, 90:10, 100:0)로 혼합하여 총 2 ml씩 합니다.
- ④ 2x staining solution을 필요한 만큼 준비합니다.
 - 예) sample 수(20) = SYBR Green solution 6 μ l + PI 6 μ l + Saline 1.988 ml
- ⑤ 준비된 균주 혼합액을 96-well microplate에 100 μ l/well로 분주한 후 2x staining solution 100 μ l를 첨가합니다. 각 조건당 duplicate 또는 triplicate을 권장합니다.
- ⑥ 빛을 차단한 후 실온에서 30분 동안 배양합니다.
- ⑦ Microplate reader [Ex 485 nm, Em 530 $\pm$ 15 nm(Green), 630 $\pm$ 20 nm(Red)]로 측정합니다.

결과 분석

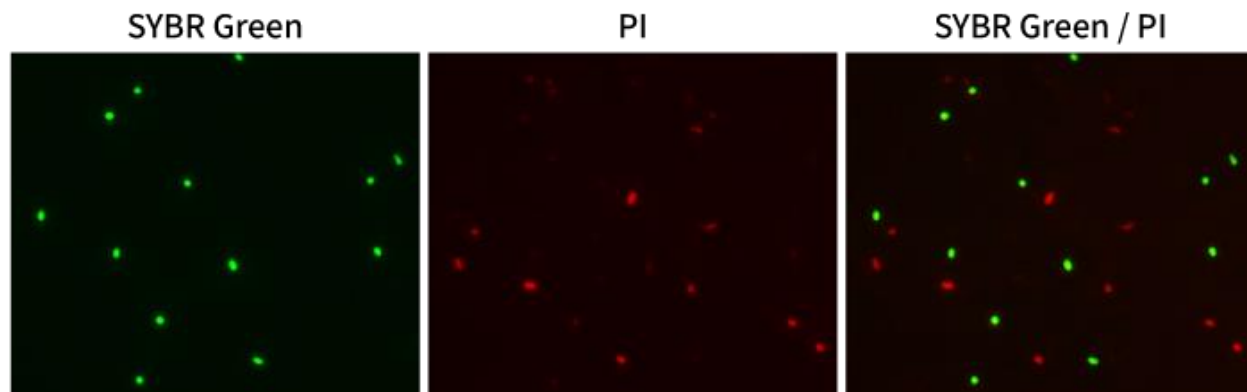


Figure 1. SYBR Green/PI staining analyzed with fluorescence microscopy. Fluorescence images of the same samples at 530 nm (green, Live cells) for SYBR Green signal, 630 nm (red, Dead cells) for PI signal and merged images are shown. 50:50 ratio of live and dead cells of *E. coli* was used.

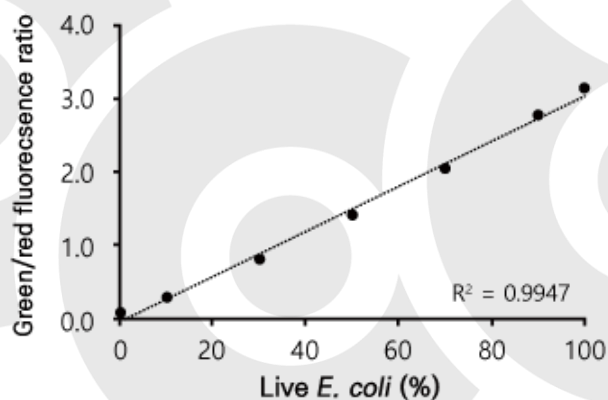


Figure 2. SYBR Green/PI staining can assess the viability of *E. coli*. The graph shows the percentage of live *E. coli* cells (G/R ratio), calculated based on fluorescence intensity ratios from SYBR Green (G; live) and PI (R; dead) signals.

Related products

- | | |
|-------------|--|
| - QB-0100 | Quanti-Micro™ Microbial Viability Assay Kit (Colorimetric) |
| - MS-BC1000 | Micro-Stain™ Bacterial CTC Staining Kit (Fluorometric) |
| - MS-BM1000 | Micro-Stain™ Bacterial Live/Dead Metabolism Assay Kit (Fluorometric) |
| - MS-YC1000 | Micro-Stain™ Yeast Viability Assay Kit (Fluorometric) |

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 **MSDS**를 참조하십시오.



Homepage : www.biomax.com

Shopping mall : www.biomaxmall.com

E-mail : info@scgbiomax.com

Tel : 02-3296-3158 / Fax : 02-973-2858

(주) 바이오맥스 : 경기 구리시 갈매순환로166번길 46, 금강펜테리움 IX타워 CORE-C, 7층

Note

