

## P-37 如何对有呼吸活性的细菌进行染色

### · 染色机理

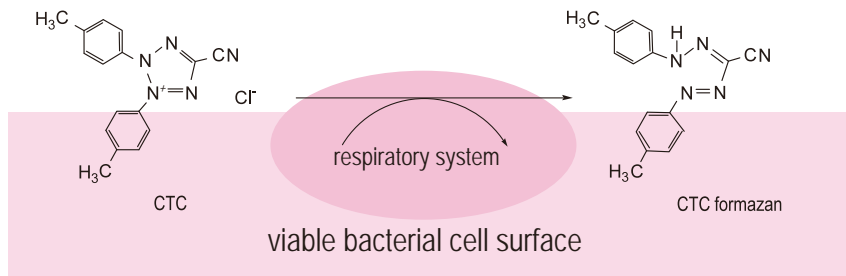


图1. CTC染色机理

### · 细菌的染色实例

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

染色步骤 (仅供参考)

1. 在一个CTC管中加入750  $\mu\text{l}$  灭菌水，充分混匀(终浓度为50 mM)<sup>a)</sup>。
2. 用PBS(-)或生理盐水配制菌液，控制细胞量在 $10^6$ 个/ml (流式细胞仪) 或 $10^8$ - $10^9$ 个/ml (荧光显微镜) <sup>b)</sup>。
3. 按下表用量在1 ml菌液中加入以下试剂，用涡旋器充分混匀<sup>c)</sup>。

	CTC溶液	Enhancing Reagent A
流式细胞仪	20 $\mu\text{l}$	1 $\mu\text{l}$

	CTC溶液	Enhancing Reagent B
荧光显微镜	20 $\mu\text{l}$	5 $\mu\text{l}$

4. 在37  $^{\circ}\text{C}$  培养30 min。

5. 用流式细胞仪检测或荧光显微镜观察。

- a) 该溶液在-20  $^{\circ}\text{C}$  可以保存2周。
- b) 染色时，由于样品中残留的培养基可能会和CTC发生还原反应，所以要用PBS(-)或生理盐水更换培养基。
- c) CTC染色效果不佳时，可以适当增加CTC溶液的量或延长培养时间。但是原则上每个样品溶液中CTC溶液的加入量不超过100  $\mu\text{l}$ 。

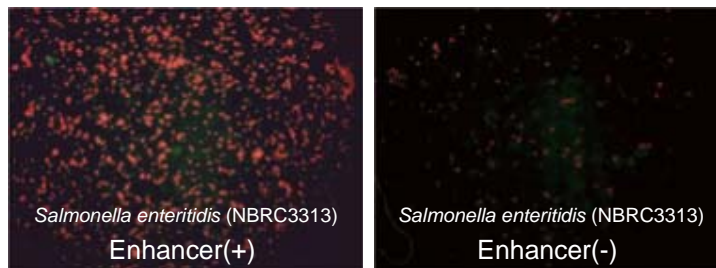


图2. 染色效果对比图

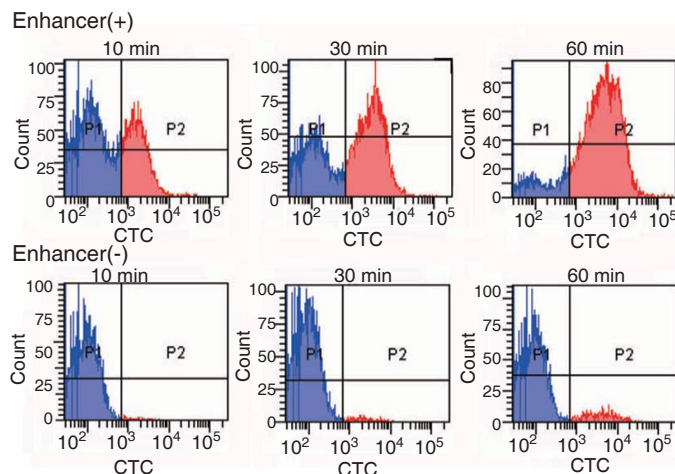


图3. *E. Coil* 细菌活性检测对比图

上图 (用CTC Rapid Staining Kit)

下图 (用CTC)