

細菌の生 / 死細胞数測定 – CyStain BacCount Viable –

アプリケーションレポート Vol.25

本アプリケーションレポートでは、CyStain BacCount ViableとフローサイトメーターCyFlow Cube 6を用いた細菌の生/死細胞数測定の例をご紹介します。CyStain BacCount Viableに含まれるCyStain Greenは、細胞膜透過性のDNA染色色素で、細胞膜の状態に関わらず全ての細菌の核DNAを染色します。一方、CyStain Redは、細胞膜非透過性のDNA染色色素で、細胞膜が損傷した細菌(死菌)にのみ透過し、核DNAを染色します(図1)。また、CyFlow Cube 6では、2本のプラチナ電極(スタート電極とストップ電極)を用いて正確に一定量(200 μ l)のサンプルを測定し細胞数をカウントすることができます(TVAC, True Volumetric Absolute Counting)。

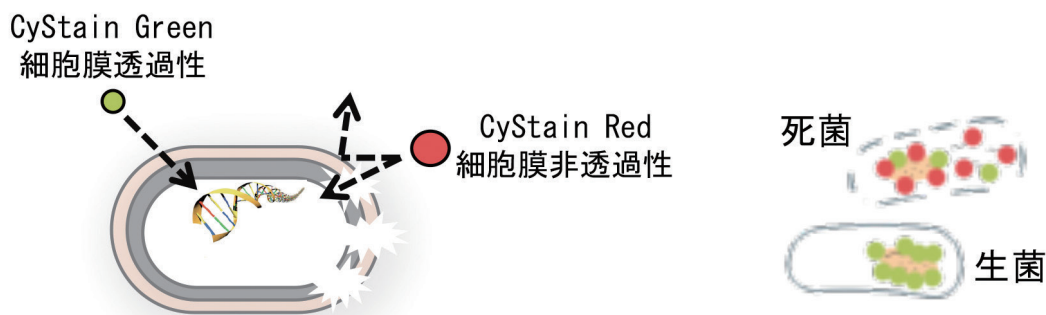


図1. CyStain BacCount Viableでの細菌の生死判定

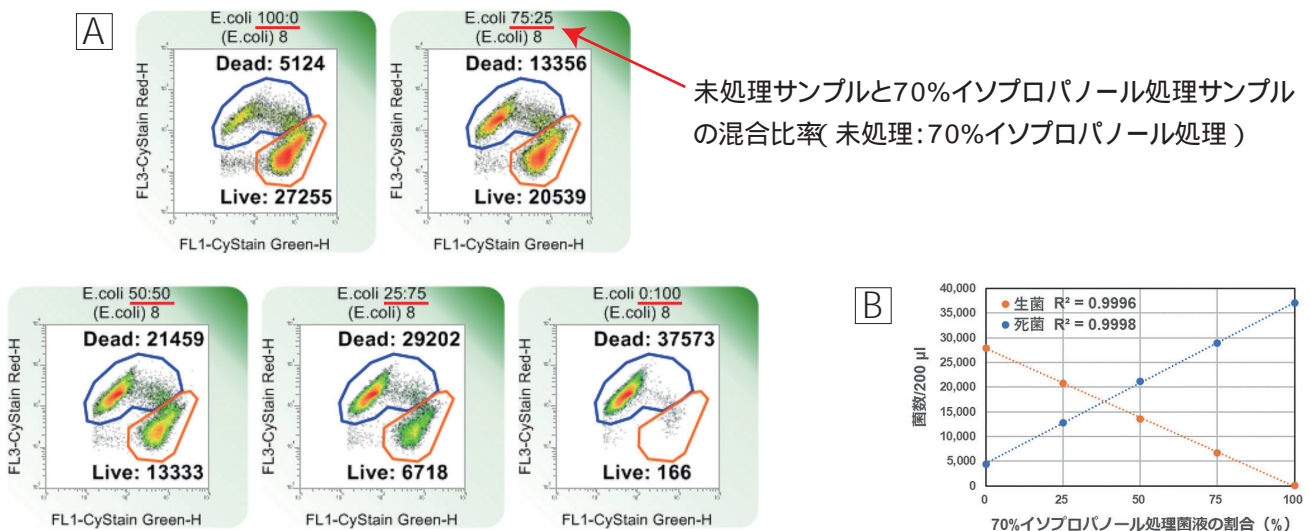


図2. Cystain BacCount ViableとCyFlow Cube 6を用いた細菌数測定と線形回帰分析

(A) 未処理と70%イソプロパノールで30分間処理した大腸菌(Escherichia coli)を様々な比率で混合した細菌懸濁液をCyStain BacCount Viableで染色し、CyFlow Cube 6の絶対数カウント機能(TVAC)を用いて測定しました。

(B) 3回の測定結果の生菌数と死菌数の平均値をプロットし、線形回帰分析を行いました。その結果、生菌($R^2=0.9996$)、死菌($R^2=0.9998$)ともに精度の高い回帰直線が得られました。

