

产品说明书

中文名称：叠氮溴化丙啶 20 mM 水溶液

英文名称：PMA, 20 mM in water

产品货号：BN14051

产品规格：100 μ L

应用范围：核酸染色

产品参数

外观：橙红色液体

Abs = 464 nm (before photolysis)

Abs/Em (after photocrosslinking to nucleic acid)= 510/610 nm

贮存条件：4 $^{\circ}$ C 避光保存

保质期：12 个月

分子量：511

产品介绍

PMA 是一种高亲和性的 DNA 结合染料，该染料本身具有微弱的荧光，但与核酸结合后可以发出更为明亮的荧光。它尤其与双链 DNA 具有高亲和性。PMA 不能透过细胞膜，因此只能选择性标记死细胞上暴露在外的 DNA。这个特性使得 PMA 可以通过实时定量 PCR (qPCR) 的手段，广泛用于可被培养的病原细胞的筛选，因为 PMA 可与死细胞上的 DNA 牢固结合，而不能用于 PCR 反应的扩增 (图 1)。PMA 的这个特性使其可以通过实时定量 PCR 的手段，广泛用于可被培养的病原细菌的筛选 (图 2)。

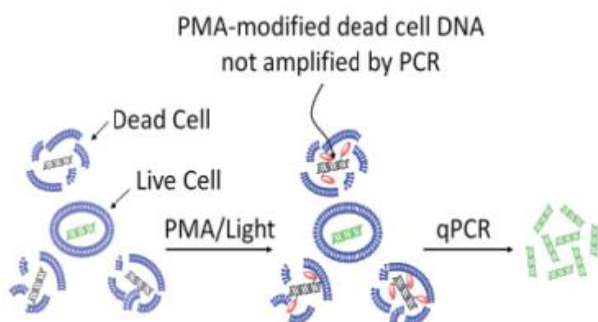


图 1. PMA 修饰 DNA 后通过 qPCR 定量区分死活细菌原理

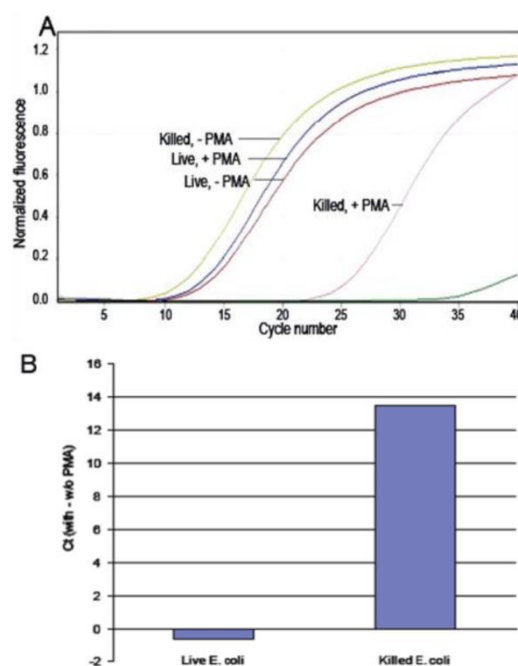


图 2. 以活的和热灭活的 *E. coli* 的 DNA 为模板，加入 PMA 后进行 qPCR 反应，监测 PMA 对反应的影响，引物以 16S rRNA 为模板设计进行扩增。(A) 加入 PMA 后进行实时定量 PCR 反应，得到的扩增曲线；(B) 在死活 *E. coli* 的 DNA 中分别加入 PMA，进行 qPCR 反应，与阴性对照相比，得到的 ΔCt 值 (加入 PMA 的 Ct -不加 PMA 的 Ct)。

使用方法

1. 用合适的培养基接种、扩增细菌 (扩增体积按具体要求而定)。
2. 37 $^{\circ}$ C, 200 RPM, 过夜震荡培养。
3. 继续培养细菌，直至其培养悬液 OD 值接近 1。

4. 58°C 3 h 或者 90°C 5 min, 灭活细菌, 制备死菌对照样品。
5. 吸取 500 μ L 等分细菌培养液置于干净微量离心管中。
6. 向装有细菌悬液的微量离心管中加入适量 PMA, 使其终浓度为 50 μ M。
7. 室温避光孵育 5 min, 孵育期间可以适当指拨混匀, 也可以盖上铝箔纸置于摇床孵育。
8. 将样品曝光, 使 PMA 与 DNA 充分交联。
9. 5,000g, 10 min 离心样品。
10. 使用标准方法或试剂盒抽提基因组 DNA, 用于后续的 qPCR 实验。
11. 进行 qPCR 实验, 样品中被 PMA 修饰的 DNA 将会在 qPCR 反应中表现出扩增延迟效应。

注: 1. 标记的条件因细胞种类而异, 在每次实验前, 请先

确定最佳条件。以上方法仅供参考。

2. 扩增片段长度一般短于 100 bp。当扩增片段大于 100 bp 时, 热灭活处理的加入 PMA 后的细胞, 其反应信号会有所减弱。

3. 在制备阳性对照时, 通常 1ng 的活细胞基因组 DNA 足够获取好的信号值。因而用商业化的抽提试剂盒提取基因组 DNA 时, 建议使用 1-2 μ L 的 DNA 洗脱液作为优化条件的出发点。

注意事项

1. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。