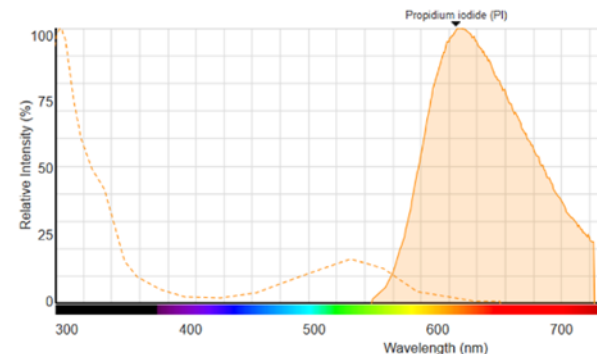
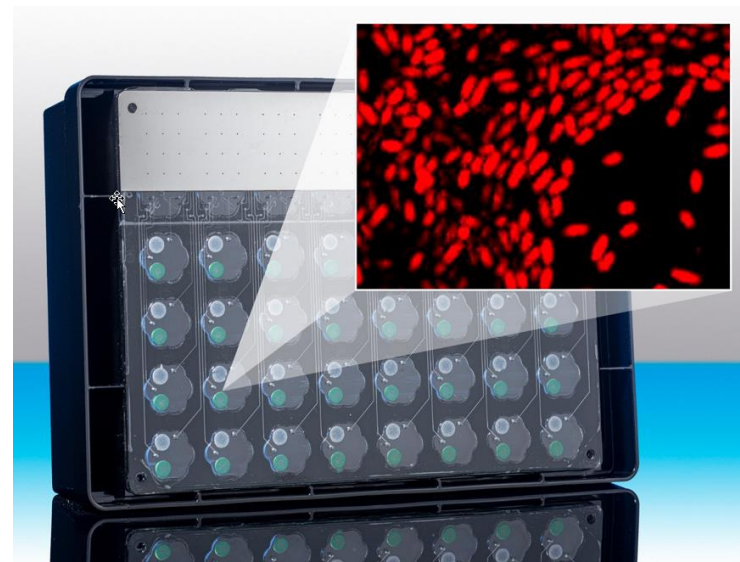


アプリケーションノート – 細胞死の判定

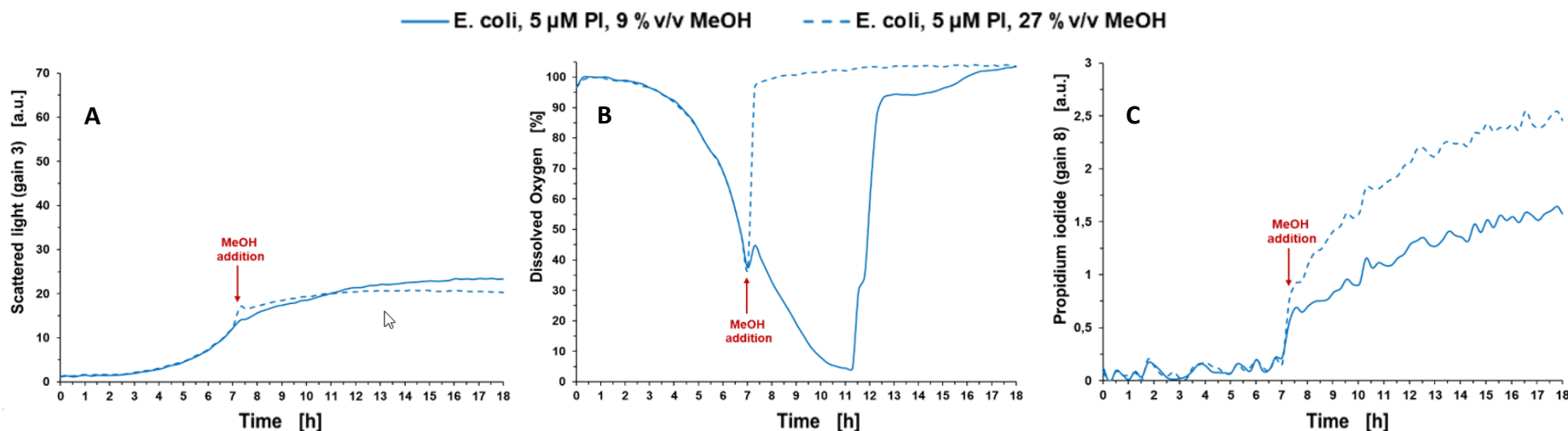
BioLector® II/ProでのオンラインPI測定による細胞毒性評価

- Propidium iodide (PI) はDNAに挿入される蛍光色素です
 - 細胞の生存率評価に使用します
 - 無傷の細胞膜からは入りません
 - 無傷で溶解した死細胞の識別が可能です
- DNAに挿入されることで、蛍光励起と発光極大がシフトします
 - $\lambda_{em, bound} = 617 \text{ nm}$
- 使用された濃度では、微生物増殖への影響は無視できるレベル (*E. coli*)



アプリケーションノート – 細胞死の判定

メタノール誘導による細胞溶解をPI蛍光発光によってモニター



- メタノール添加による微生物増殖の急激な遅延または停止 (図1A)
- メタノール濃度が高い場合の完全な細胞死は、溶存酸素の急激な復帰で判明 (図1B)
- PI蛍光による細胞生存率の簡単でオンラインの瞬間フィードバック (図1C)

図1 : E.Coli培養での細胞毒性スクリーニング
ストレス要因として違う濃度のメタノールを使用

E. coli BL21 wild typeをWilms-MOPS培地
(10g/Lグリセロール) でバッチ培養

最終濃度9%_{v/v}、27%_{v/v}としてメタノールを添加

FlowerPlate® (MTP-48-BOH2) 使用

$V_0 = 800\mu\text{L}$ 、 $n = 800\text{rpm}$ 、 37°C

PI蛍光発光値は、培地に対してブランク

アプリケーションノート – 細胞死の判定

アプリケーション例：培地のスクリーニング（バッファー濃度）

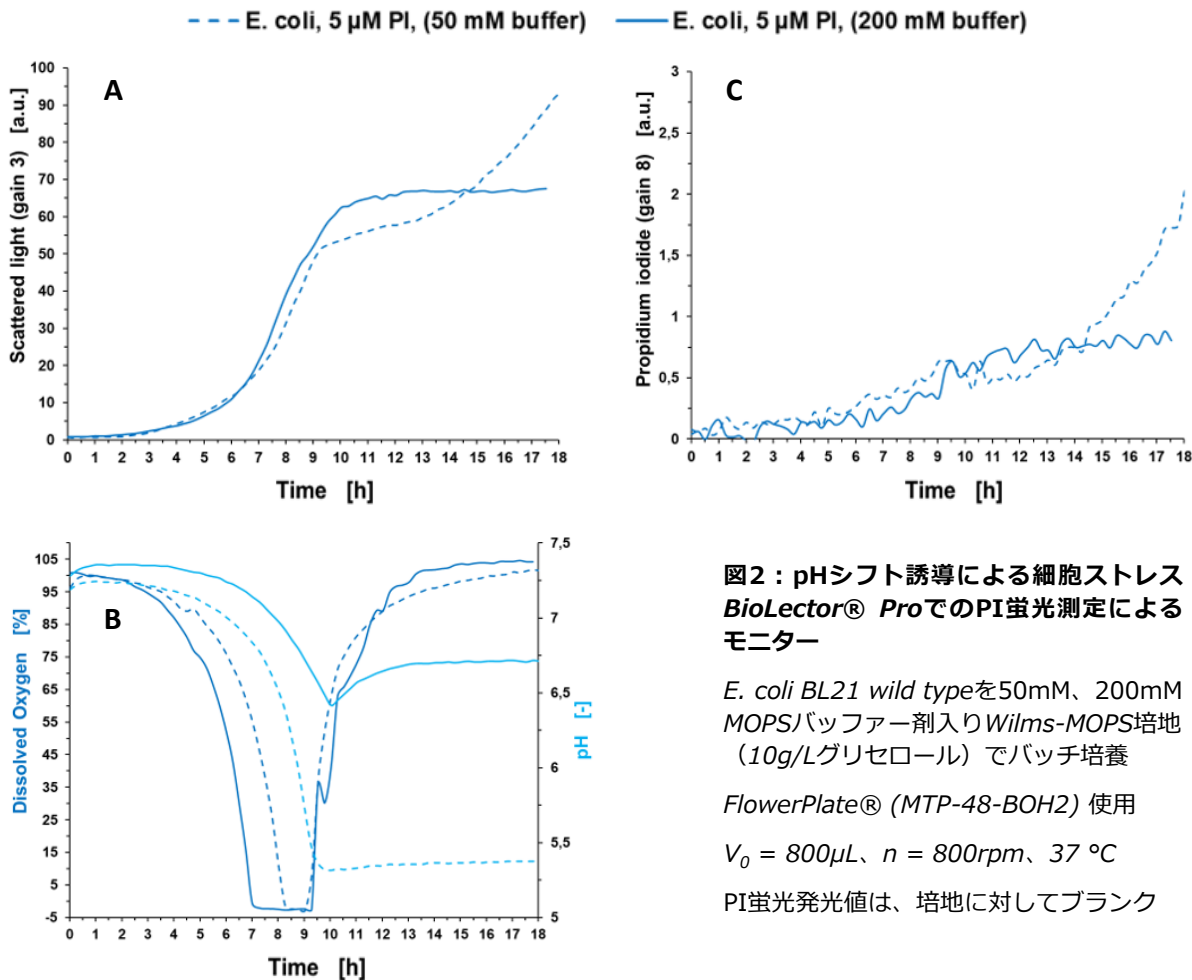


図2：pHシフト誘導による細胞ストレス
BioLector® ProでのPI蛍光測定による
モニター

E. coli BL21 wild typeを50mM、200mM
MOPSバッファー剤入りWilms-MOPS培地
(10g/Lグリセロール) でバッチ培養

FlowerPlate® (MTP-48-BOH2) 使用

$V_0 = 800\mu\text{L}$ 、 $n = 800\text{rpm}$ 、 37°C

PI蛍光発光値は、培地に対してブランク

- バイオマス（散乱光）のみに注目すると
→ 低いバッファー濃度が良いという誤印象
- **PI シグナル**は、障害のある細胞生存率を明らかにする。
- 散乱光の更なる増加は、死んだ細胞からの断片によるもの
- 低濃度バッファー培地でのpH低下は、細胞溶解を引き起こす

アプリケーションノートをご希望の場合は ご連絡ください

public@m2p-labs.com

m2p-labs Headquarters
info@m2p-labs.com

m2p-labs, Inc., NY, USA
infoUS@m2p-labs.com

m2p-labs Ltd, Hong Kong
infoAsia@m2p-labs.com