



Ethidium Monoazide Bromide (EMA)

——细胞核荧光探针

产品货号	包装规格
C009	5 mg

储存条件：-20°C，避光保存。

激发/发射波长：504/600 nm，bound to DNA

产品说明书

安迪福诺生物科技（武汉）有限公司

ABP Biosciences Inc

武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园 C2-4 栋 5 楼

电话：400-0667-718

邮箱：sales@abpbio.cn

网址：www.abpbio.com (英文)

www.abpbio.com.cn (中文)

产品介绍

Ethidium Monoazide Bromide (EMA)是一种具有高亲和力的光敏反应 DNA 结合染料，染料自身的荧光非常微弱，但是在光合作用下，它能够共价地结合到 DNA 分子中发出的荧光信号强度可增强 15 倍。**EMA** 倾向于结合双链 DNA，很容易的在结合部位与碳氢化合物部分地结合生成稳定牢固的共价氮碳键，从而形成稳定的 DNA 修饰。**EMA** 不能通透细胞膜，因此它只能选择性的修饰死细胞“暴露”的 DNA（细胞壁和细胞膜已破损的细胞）。利用这一特性，**EMA** 通常与定量 PCR 联合使用，进行选择性的扩增活细胞 DNA，不扩增死细胞 DNA。利用 **EMA**（Ethidium Monoazide Bromide）联合 PCR 技术选择性抑制死细胞扩增，该方法结合了 **EMA** 选择渗透性和 PCR 特异性，可以有效地区分死、活细胞，通常用于死、活细菌中的检测。

注意事项

- 为避免反复冻融，建议适当分装。
- 对于微量的液体，每次使用前先离心数秒钟，使液体充分沉降到管底。
- 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。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

实验步骤

储存液的配制

将固体染料溶解于二甲基酰胺（DMF）或甲醇（MeOH）中，配制成 5 mg/ml 的储存液。配制好的储存液，在避光-20°C 的条件下至少可以保存 1 年。

qPCR 检测 EMA 处理的细菌

注意：以下实验步骤操作说明适用于实验室培养的细菌株，如果需要处理复杂的生物学或环境样本，比如粪便或土壤等，需要对以下操作说明进行修改优化。

1. 将细菌接种到合适的培养基中。
2. 置于摇床培养箱中，200rpm，37°C 过夜培养。
3. 继续培养，直到细菌培养液达到合适的 OD600 值（比如对数生长期对应的 OD600 值）。
4. 准备阳性对照实验组，100°C 处理细菌 10 分钟，得到热灭活细菌作为阳性对照样本。为了确定细菌是否被热灭活，分别取 250µl 热灭活及对照细菌，涂布于合适的细菌生长培养皿中，置于 37°C 培养，24 小时之后检查菌落生长情况，继续培养 3~6 天之后再次检查菌落生长情况。
5. 吸取步骤 3 中 500µl 细菌培养液到一支干净的离心管中。

6. 加入适量的 EMA 储存液，使得 EMA 的终浓度为 50 μM （比如 500 μl 细菌培养液中加入 1.25 μl 20mM 的 EMA 储存液）。
7. 室温条件下，避光反应 5 分钟。轻弹离心管管壁使得充分混匀，或者用铝箔纸包裹离心管置于摇床中孵育。
8. 将细菌样本置于 LED 光源下反应 15 分钟。此步促进 EMA 共价地结合到 DNA 分子中，从而形成稳定的 DNA 修饰。
9. 5000 x g 离心细菌样本 10 分钟。如果看不到细菌沉淀，可再次以最大转速离心 5 分钟。
10. 提取细菌基因组 DNA，使用标准的操作流程或商品化的试剂盒操作说明进行 qPCR 分析。对于复杂的生物学或环境样本，比如粪便或土壤等，选择合适的 DNA 提取操作方案。
11. 根据检测的物种，选择合适的引物对基因组 DNA 进行 qPCR 检测。经过 EMA 处理的 DNA 模板在进行 qPCR 扩增时显示扩增延迟。通过 qPCR 扩增结果 Ct 值差异可以判断细菌群体中死细胞的比例。

参考文献

- 1) J. Mol. Biol. 92, 319 (1975); 2) Euro. J. Biochem. 182, 437 (1989); 3) J. Biol.Chem. 257, 13205 (1982); 4) J. Biol. Chem. 259, 11090 (1984); 5) Cytometry 11,610 (1990); 6) Cytometry, 12, 133 (1991); 7) Biotechniques, 34 (4), 804 (2003).