

Universal Bacterial Biofilm Live/Dead Viability Assay Kits(SYTO Live™ 9, PI)

最快 20 min 速染，精准定性检测细菌生物膜活性，适配多样载体

产品货号：C20607

产品规格：50 T, 250 T

储运条件：-20℃避光保存，冰袋运输

产品简介：

Universal Bacterial Biofilm Live/Dead Viability Assay Kits(SYTO Live™ 9, PI)是一款专为生物膜体系设计的双荧光通道生物膜细胞活力检测试剂盒，核心组分包含SYTO Live™ 9 绿色荧光核酸染料和碘化丙啶(PI)红色荧光核酸染料，旨在精准攻克生物膜荧光染色与成像的独特挑战，实现活死细胞的高效区分。生物膜普遍存在厚度不均、结构异质性强、胞外聚合物基质组分复杂等问题，严重限制染料穿透性，且内部微环境差异导致细菌生理状态多样化，给活力检测带来巨大阻碍。本试剂盒的核心原理基于细胞膜完整性差异与染料特性适配：SYTO Live™ 9 具有优异的穿透能力，可穿透完整细胞膜及复杂胞外基质，与所有细菌（活菌和死菌）的核酸结合，发出绿色荧光；PI则仅能穿透细胞膜受损的死菌，与核酸结合后通过荧光共振能量转移(FRET)抑制SYTO Live™ 9 的绿色荧光，使死菌呈现红色荧光，通过双荧光信号的互补实现活死细胞的精准区分。相较于传统检测方法（如平板计数法、结晶紫染色法），该试剂盒优势显著：平板计数法操作繁琐、耗时数天，且需分离细胞，无法反映生物膜原位状态；结晶紫染色仅能定量生物量，无法区分细胞活力，重现性差；而本试剂盒针对生物膜特性优化染料配方，无需细胞分离，可原位检测三维结构中的活死细胞分布，且已通过大量科学文献验证，适用于*Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter sp. BD413*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma putrefaciens*, *Neisseria gonorrhoeae*, *non-pigmented mycobacteria*, *Novosphingobium stygiae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Pseudoalteromonas rutenica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *pyogenes*, and *Vibrio vulnificus*. *Bdellovibrio bacteriovorus*, 等数十种细菌属。其应用场景广泛覆盖微生物学研究、抗菌剂效能评估、医疗材料表面生物膜检测、食品加工设备污染监控、水处理系统生物膜分析等领域。

生物膜是细菌在生物或非生物表面形成的结构化群落，其复杂的胞外基质和异质性结构导致抗菌剂耐受性远高于游离细菌，成为慢性感染、工业生物污染的主要根源，而生物膜的厚度不均、染料穿透困难、内部微环境异质性等特性，进一步加剧了活力检测的难度，传统方法难以精准捕捉其原位活力状态。准确评估生物膜活力对疾病研究、抗菌策略开发至关重要。本试剂盒针对上述核心痛点，该试剂盒通过SYTO Live™ 9 与PI的协同作用，有效突破生物膜染料穿透限制，精准区分不同生理状态的细菌，已在数十种生物膜微生物研究中获得广泛认可。其提供的高特异性、高重复性活死细胞区分数据，为生物膜相关研究提供可靠的量化依据，有效解决传统方法操作复杂、结果滞后、无法应对生物膜异质性挑战的难题，助力科研人员高效获取准确数据，加速抗菌材料开发、感染性疾病发病机制研究及临床转化进程，推动微生物学、生物医学与工业应用的跨领域创新。

注：效能等同Thermo Fisher FilmTracer™ LIVE/DEAD™生物膜细胞活力检测试剂盒(L10316)。

注：本文中 FilmTracer™ LIVE/DEAD™为赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific)的商标及注册商标。

应用范围：抗菌材料开发、环境微生物修复研究、抗菌药物效能评估、生物膜形成与发育机制研究、菌种特异性研究

产品特点：

- **专为生物膜优化：**解决生物膜结构复杂、染色剂难以渗透的痛点，经验证适用于生物膜样本的染色与成像，是生物膜研究的专用试剂盒；
- **检测快速高效：**无需等待细菌培养平板的生长结果，染色后可快速观察，大幅缩短实验周期；
- **窄谱强信号：**SYTO Live™ 9 比进口 Bio*DMAO，光谱范围更窄更集中、多色实验兼容性好、信号稳定性更强；



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probabilities Technology CO., LTD.

- **操作简便：**仅需“加染液→孵育→观察”三步操作，实验流程简单 20 min 完成染色，易上手；
- **试剂灵活可调：**单组分染料独立分装，配比可灵活微调，适配多样环境条件。

产品组分：

组分	50 T	250 T
A. SYTO Live™ 9	30 µL	150 µL
B. PI	30 µL	150 µL

注：使用次数以 1 个 CDC 反应器玻璃样品片使用 200 µL 工作染色液计算。

注意事项：

- 开启小瓶前，请先将各化合物恢复至室温。DMSO 溶液会吸收水分，可能导致染料活性降低。SYTO Live™ 9 染料的 DMSO 母液应密封干燥保存，并在短期内使用完毕。首次使用时，可按单次使用量对 SYTO Live™ 9 与 PI 进行分装保存。
- PI 具有诱变性及毒性，DMSO 为有机溶剂，操作时均应采取相应防护措施。
- 若需对多个样品染色成像，一次染色不要超过 2 个样品。研究表明，样品长时间浸泡在水中时，染料可能会从细胞中流失。建议错峰染色，使所有样品的染色、漂洗、成像流程保持一致，漂洗后立即成像。
- 观察 CDC 反应器样品片上的生物膜时，仅使用玻璃样品片；尤其避免使用聚碳酸酯样品片成像，因为聚碳酸酯会产生自发荧光，且粗糙表面会干扰成像。成像后，可将样品片浸泡在乙醇中去除残留染料。
- 遵循以下方案操作时，无需对生物膜进行固定处理。
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避让。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：

一、实验前准备

1. 试剂准备：

- 将试剂盒各组分恢复至室温，准备 0.2 µm 滤膜除菌水。

2. 仪器准备：

- 荧光显微镜：激发/发射波长 Ex/Em：480/500 nm (SYTO Live™ 9)、Ex/Em：490/635 nm (PI)；
- 染色容器：如 60 mm 培养皿、6 孔板等。

3. 对照组设置：

组别	SYTO Live™ 9	PI	样品细胞
空白对照	-	-	不做任何处理
阴性对照	+	+	不做任何处理
实验组	+	+	实验组酵母

4. 样品准备：

- 生物膜样品：生物膜可在生物膜反应器的样品片上、以菌落形式、流动池系统或滴流反应器中培养获得。

注：本方案描述的是在 CDC 反应器玻璃样品片上培养的生物膜的染色方法。

二、操作步骤（CDC 反应器玻璃样品片上培养的生物膜）

方案一：荧光显微镜检测

1. 染色工作液配制：

- (1) 向 1 mL 经 0.2 µm 滤膜除菌的无菌水中加入 3 µL 组分 A (SYTO Live™ 9) 和 3 µL 组分 B (PI)，配制荧光染色工作液。

样品数量	5	10	20
------	---	----	----



A. SYTOLive™ 9	3 µL	6 µL	12 µL
B. PI	3 µL	6 µL	12 µL
0.2 µm 滤膜除菌水	1 mL	2 mL	4 mL
Working Solution	~1 mL	~2 mL	~4 mL

注：单个样品片仅需 200 µL 工作染色液；染料在水中不稳定，因此稀释后的染色液需当日使用，剩余部分应废弃。

2. 染色：

(1) 将样品片或其他样品载体材料放入染色皿中。

(2) 向生物膜样品上滴加200 µL染色液。滴加时动作必须极其轻柔，避免扰动生物膜；务必在生物膜干燥前立即加入染色液。

注：若使用其他生长载体，需调整染色液体积。

注：生物膜干燥会导致结构不可逆破坏，染色液滴加速度和角度需轻柔，避免冲散生物膜。

(3) 盖上染色皿，室温避光孵育20 min，孵育时长可根据实际观察到的染色效果进行灵活调整，调整区间为20~30 min。

注：试剂盒中 SYTOLive™ 9 与 PI 染料经平衡优化，1:1 体积比混合可满足绝大多数样本的活菌/死菌荧光区分需求。

特殊情况下，可根据实际检测需求调整染料混合比例。若样本中绿色荧光信号过强，可通过降低 SYTOLive™ 9 浓度或提高 PI 浓度优化染色效果。

注：各染料的孵育时长、加样量可以根据实验所用的不同细胞种类、预实验结果或实验条件设置的使用量进行调整。

3. 清洗：

(1) 用滤膜除菌水轻柔冲洗样品，去除样品片底部残留的多余染色液和冲洗液。

注：冲洗需轻柔，避免冲掉生物膜；需彻底去除底部残留液体，防止观察时产生背景干扰。

4. 显微镜观察与拍照：

(1) 若使用反应器样品片，为获得最佳观察效果，可将样品片放入 60 mm 培养皿中，加入滤膜除菌水，使液面没过样品片表面 1~3 mm；随后使用显微镜的 40×（数值孔径 0.7，工作距离 3.3 mm）水镜物镜，或 63×（数值孔径 0.9，工作距离 2.2 mm）水浸物镜进行观察。

(2) 分别在预设的滤光片条件下，寻找并分别拍摄。

三、结果判读：

1. 定性分析（显微镜）：

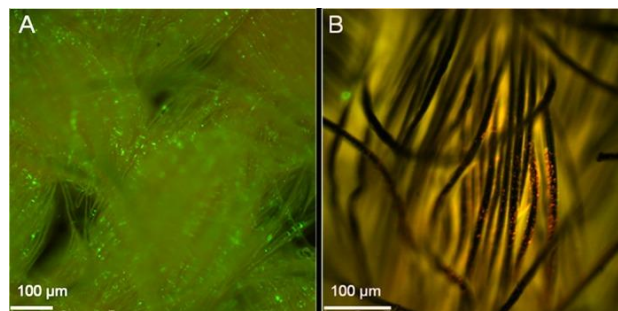


图 2.MRSA 染色效果荧光显微镜图

结果判读：通过荧光显微镜原位可视化验证直流磁溅射铜聚酯表面杀菌 MRSA 效果。图 A 为未溅射表面，图 B 为溅射表面，结果表明细菌沉积在未溅射的聚酯表面发出绿色荧光，表明有活菌存在。溅射聚酯表面上的细菌主要呈红色荧光，表明细菌已死。

注：图片引自参考文献《Comparison of methods for evaluation of the bactericidal activity of copper-sputtered surfaces against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*》(DOI: 10.1128/AEM.02266-12)

常见疑问与解答：

● 问：为什么不建议多个样品同时检测？

答：研究表明，样品长时间浸泡在水中时，染料可能会从细胞中流失。建议错峰染色，使所有样品的染色、漂洗、成像流程保持一致，漂洗后立即成像。

● 问：为什么染料孵育完成后，检测不到荧光？

答：生物膜普遍存在厚度不均、结构异质性强、胞外聚合物基质组分复杂等问题，严重限制染料穿透性，且内部微环



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probelives Technology CO., LTD.

境差异导致细菌生理状态多样化，可适当增加孵育时间。

