



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℃，避光保存。

激发/发射波长：504/600 nm, bound to DNA

产品说明书

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路 3 号广州国际企业孵化器 F 区 8 楼

邮编：510663

电话：4006-020-200

邮箱：sales@igenebio.com

网址：www.genecopoeia.com www.igenebio.com

产品介绍

Ethidium Monoazide Bromide (EMA)是一种带有光亲和性标签的非荧光性 DNA 染料，其自身的荧光非常弱。但是在光作用下，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** 完全不能通透细胞膜，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 RT-PCR 联合使用，进而选择性的扩增活细胞 DNA，不扩增死细胞 DNA。利用 **EMA** 联合 PCR 技术可选择性地抑制死细胞扩增，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。

物理性质

颜色和形态：橙色粉末

纯度：95%（HPLC）

溶解度：溶于二甲基甲酰胺及乙醇

注意事项

- 为避免反复冻融，配制好的储存液建议适当分装。
- 对于微量的液体，每次使用前请先高速离心数秒，使液体充分沉降到管底。
- 荧光染料不可避免的存在淬灭问题，请存放及操作时尽量注意避光，以减缓荧光的淬灭。
- 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

EMA 储存液的配制

将固体染料溶解于二甲基甲酰胺（DMF）或甲醇（EtOH）中，配制成 5 mg/ml（20 mM）的储存液。配制好的储存液，在-20℃ 避光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，如需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. 将细菌接种到合适体积的肉汤培养基中。
2. 置于摇床培养箱中，200 rpm（转/分钟），37℃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）。

注意：OD600 通常用来指细菌细胞的密度，是追踪液体培养物中微生物生长的标准方法。得到的 OD600 的数值如果在 0.6-0.8 之间，表明细菌处于旺盛生长的对数生长期，OD600>3 表明细菌已经饱和。

4. 准备阳性对照实验组。采用 100℃ 处理细菌 10 分钟的方法，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。用 Parafilm 膜密封培养皿，置于 37℃ 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. 按步骤 3。按实验需求，分别等量吸取 500μl 的细菌培养液中到干净的离心管中。
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 浓度为 20 mM 的 EMA 储存液。
7. 室温条件下，避光孵育 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并置于摇床上孵育。
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).