

# 流式细胞术在抑菌检测中方法的建立和应用

蒋海霞, 许杰

(上海交通大学生命科学技术学院仪器共享和技术服务平台, 上海 200240)

**摘要:** 针对目前抗生素类药物在抑菌实验检测中存在缺少量化指标、无法准确评估细菌自身生长状态以及实验周期较长等缺陷, 以申喹霉素抑制黄单胞菌的研究为例, 全面探究了流式细胞技术在抗生素抑菌检测中方法的建立和应用。结果证明了流式细胞技术能够在抗生素等药物抑菌实验中快速、量化和准确地检测细菌的生长状态和活力, 该技术填补了目前相关研究的技术不足。为解决抗生素等药物抑菌机理检测中的关键核心技术提供科学数据支持, 也有助于拓展流式细胞技术在细菌凋亡研究领域的应用。

**关键词:** 流式细胞术; 抑菌检测; 申喹霉素; 黄单胞菌; 细菌凋亡

**中图分类号:** G642

## Establishment and Application of Flow Cytometry in the Detection of Antibacterial activity

Jiang Haixia, Xu Jie

(Core Facility and Technical Service Center for School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract:** In response to the shortcomings of lacking quantitative indicators, inability to accurately evaluate the growth status of bacteria, and long experimental cycles in the current antibacterial testing of antibiotics, the study of Shenqinmycin inhibiting *Xanthomonas* is taken as an example to comprehensively explore the establishment and application of flow cytometry in the detection of antibiotic antibacterial activity. The results demonstrate that flow cytometry can quickly, quantitatively, and accurately detect the growth status and vitality of bacteria in antibacterial experiments of antibiotics and other drugs, filling the technical gaps in current related research. This study provides scientific data for key core technologies in the detection of antibacterial mechanisms of antibiotics and other drugs, and also expands the application of flow cytometry in the field of bacterial apoptosis research.

**Key words:** flow cytometry; antibacterial testing; Shenqinmycin; *Xanthomonas*; bacterial

## 引言

抗生素仍旧是目前人类对抗细菌最有效的武器之一。在抗生素抑菌能力的研究中，快速检测靶标细菌的生长或活力状态至关重要[1]。目前检测细菌生长和活力的经典方法主要是平板抑菌圈法和细菌细胞透性检测（包括膜电势测量法和  $\text{Ca}^{2+}$  浓度测量法等）[2-4]，尽管这些方法比较成熟，但存在耗时长、误差大、操作繁琐等缺陷，难以满足抗生素抑菌能力试验中快速准确地检测细菌的生长状态的要求，因此，寻找新的可用于抗生素抑菌检测的方法是很有必要的。

流式细胞仪（flow cytometer, FCM）是一种通过对液流中的生物颗粒（如细胞和微生物等）的生物学特征（包括细胞大小、内部结构、DNA 和 RNA 含量、细胞表面或胞内蛋白质分子的表达等）分析来快速定量或定性的检测仪器[5]，已广泛应用于分子生物学、遗传学、生物化学、免疫学、药理学、营养学、肿瘤医学和临床检验等领域[6]。FCM 具有灵敏、精确、高效、样品前处理简单的优势，可快速的对多参数数据进行采集，在实验室研究、临床诊断、工业生产、环境监测等众多领域极具应用前景[7]。目前流式细胞仪在真核生物细胞的凋亡方面的检测已经比较成熟，可以实现快速的对活细胞和死细胞进行有效的区分[8]。由于真核细胞和原核细胞存在固有的差异（比如：细胞的大小、细胞壁组成、细胞核的有无、染色质状态等），目前流式细胞技术在区分细菌的生长状态方面的研究还相对较少。

近年来，随着各类荧光染料的出现与流式细胞检测仪等技术的发展，通过流式细胞仪检测不同的荧光信号来分析细菌等微生物成为可能。李森通过系统分析影响流式细胞仪定量检测结果的各种因素，优化调整进样浓度、进样速率、SYBR Green I 和碘化丙啶（PI）染料浓度、染色温度和染色时间，建立了适用于水环境样品细菌活性分析的快速定量检测方法[9]。邓颖通过研究染料荧光团 SYTO 9 和 PI 的细菌染色特性、染色浓度和染色时间评估流式细胞仪定量检测大肠杆菌活性的效果[10]。这些研究表明利用流式细胞术可实现细菌死活的检测。

黄单胞菌属病原细菌可以侵染超过 400 种植物，造成严重的经济损失，是我国目前防治的重点病害微生物之一[11]。申嗪霉素（Shenqinmycin）是假单胞菌 *Pseudomonas* 代谢产物吩嗪-1-羧酸（phenazine-1-carboxylic acid, PCA）的商业名称，其是上海交大学生命科学技术学院与上海农乐生物制品股份有限公司自主研发、具有广谱抗菌活性的一种新型微生