发放日期	
归档日期	
指导教师（签字）	
第　本	共　本

苏州大学研究生科研记录本

（自然科学类专业用）

论文题目：噬菌体冰晶硫化纳米线应用于污水中细菌的捕获与清除

培养单位：苏州大学

专　　业：公共卫生与预防

姓　　名：李琪璇

学　　号：20244247020

指导教师：熊玲红

使用起止时间：2025年3月1日

记录起止页码：

科研名称：

日期：　年　月　日

		Pa/1mL	PBS/mL	LBT@PAP/mL
PAPL	① PBS	100		
	② LBT@PAP Dark		50	50
	③ LBT@PAP Light		50	50

		Se/mL	PBS/mL	LBT@SEP
SEPL	① PBS	100		
	② LBT@SEP Dark		75	25
	③ LBT@SEP Light		75	25

步骤：37°C摇床孵育3h后光照处理或光照30min.

6000g 3min离心. 去上清先用 0.1×PBS洗2次后 0.01×PBS洗2次

取20μL滴在铜网上放干.

LBT@SEP in 尼龙网的制样. 将LBT@SEP稀释为10μM, 20μM

滴在尼龙网上放干. (尼龙网事先用75%酒精泡过放干)

3. 黄当归粉末的提取液 LBT@ECP对其已知菌的抑菌活性情况.

LBT@ECP + Se / Sx

原200μL　Se/Sx加 2μL

LBT@ECP + 20μL　剩余PBS补齐

20mm尼 6000g 5min离心黄当归的提取液.

4. 合成LBT@SAP和LBT@ECP　　LBT风新识别的200μM 4mL

3.92mL H_2O + 800μL 10mM LBT + 2μL 2M NaOH 37°C放置

科研名称：

日期：2020 年 1 月 21 日

1. 补加天的过夜前后细菌计数.

	Before 补加计数			After 补加计数		
Sa						
Pa	181	161	189	155	156	183
Se	191	183	176	125	101	144
Sx	22	21	25	21	20	20
Ec8739	31	46	47	25	28	29

2. TEM制样. 用的菌到 LBT 上有 Saphage / Ecphage.

LBT@SAP 20mL LBT浓缩物 + 300μL 10^{10} PFU/mL SAP

LBT@Ecp 2mL LBT浓缩物 + 300μL 10^{10} PFU/mL Ecp

37°C 摇床动感 30 mm后: 4000g 3mm离心.

① LBT@SAP 上清原液 10mL 30min

② LBT@SAP 上清稀释10倍 10mL 30mm ×2

③ LBT@Ecp 上清原液 10mL 30mm.

④ LBT@Ecp 上清原液 未稀释10倍 10mL 30mm×2

⑤ LBT@SAP 上清稀释2倍 10mL 直接过干

pH 7.0 2% PTA染 6mm.

科研名称：

日期：2025 年 12 月 2 日

1. 对照组的结果计数，并分析

	Dark			Light		
0	106	102	102	109	98	97
5	95	96	98	86	85	86
15	81	77	77	63	53	61
30	67	59	59	32	28	33
50	45	41	38	5	0	0

证 LBT+phage 组效果对比有显著高，对 Sx 的杀伤越强。

2. Sx + LBT @ Sxp 的活化染色情况实验设计

LBT @ Sxp 的制备合成：LBT（4mL 200μM LBT 反应后的噬菌体溶液）+ Sxp 1mL（5×10^9 PFU/mL）37°C 放 2h 后 4°C 存。

分组	Sx/mL	PBS/mL
PBS		150
LBT / Light	50mL LBT + 100mL Sx + 350mL PBS	
LBT / Dark	同上	100mL
phage / Light	phage 原液 5×10^9 稀释 10 倍	
LBT+phage / Light	50mL LBT+phage + 100mL Sx + 350mL PBS	
LBT+phage / Dark		

为避免背景再高，去黄光处理操作。

5. 打冻Sx-phage

2mL Sx + 200mL液体培养基. 摇2h后加入200μL 4×10^9 PFU/mL Sx-phage. 37°C摇床放置14h

2025年11月6日.

1. TEM制样

① phage 1 浓度较低的取原液10μL滴在膜上30min. 滴3次.

② phage 2 OD260 0.6左右 (稀释10倍) 滴10μL碳网上30min 3次

LBT+phage. 取10mL纯LBT溶液. 加phage.

此时的phage处理都是100kD超滤管 6000g 3min 超滤4次

同时保留下清和上清测OD260.

上清和下清在OD260处都有值. 0.4和0.6. 但区别是截留在上方的phage的峰形更为清晰。

用超滤后的phage ①和② 100μL 加入10mL纯LBT纯化.

37°C摇床放置5h左右取出. 6000g 5min 离心. 去上清除掉多余的phage. 用纯水洗3次. 分散到100μL H2O中

③ 用上清中的phage制3个样. 超滤上清中的噬菌体 10mL 30min×3

④ LBT+phage 1 观察溶液颜色不再变时取10mL 30min×3

⑤ LBT+phage 2　　10mL　　30 mm×3

⑥

① phage 1　② phage 2（沉淀后一半）

③ 提取出的 UST 体积　④ 提取出 UST.　⑤ 10mL UST 溶液 + 40mL H_2O

⑥ UST + phage 用水洗 3 5次.　⑦ 过量 phage + UST.

注意点：UST 体积用来打 TEM 时，一定要多次点样，洗掉多余的 PA 的影响

UST 体积的颜色要稀释到相对较浅，才容易观察清楚.

3. 继续制备荧光探针 phage (Pa).

取出昨天制的双层板，从板上刮取所需要用的 phage 的上清 500mL

PBS 中 37°C 摇床放置 4h 后全部取出.

40mL 溶菌液 + 500mL phage + 500mL Pa

放入 37°C 摇床孵育.

2025年10月23日.

1. TEM 拍摄（拍 3 2h）

结果分析：phage ① 和 ② 沉淀太厚并且背景太脏了.

phage 稀释到 50倍（添加至沉淀后）这时 OD 为 ① 为 0.6
② 为 0.8

但实际 TEM 下看到的 phage 很少.

中性 PA 也可以用，但沉淀的略高

科研名称：

日期：2025 年 10 月 9 日

Confocal 的使用：

1. 登记 — 反馈

2. 刷卡 滴一声后看到预约的后开机。从右到右 ○○○ → 打开
钥匙拧半圈。
按 power 打开开关灯。 开电脑电源。电脑右下角绿色指示灯
代表有无刷卡上机

3. 开软件 LAS-AF 等待 → 点 OK → 等待 →
下面一排放到屏幕高亮了。

4. 开激光。点第一个模块 → laser。选择需要的激光。
激光需一次性开。按习先选 20 %T
采集模块 — 选择倍数 10x 20x 40x 63x
选择二次分光镜。FL/BF
如果 405 nm 激发。接的光就是都比如 15-30

5. 4个模块调好后上片，按到该块，先看台阶平整度。
用台阶平整后放片子。（0.17mm 厚度。专用）
Shutter 按钮打开。A 蓝光亮了。
调焦，一边调一边看电脑。如果 afc 亮了没调可以了

6. 上 live 看画面图像。
Smart gain 调电压 800-1000 V 都可以