

CheckLite 250 Plus

ID - № 1 002 648

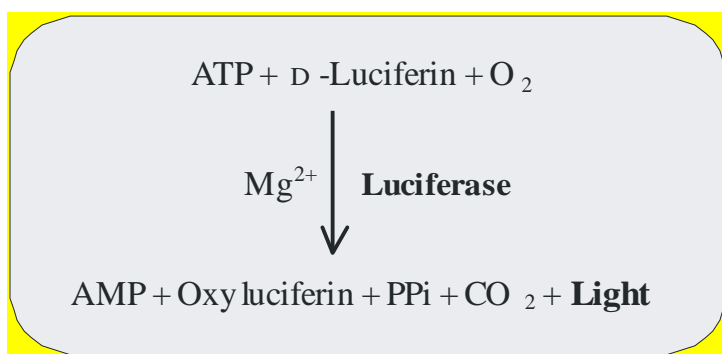
Набор для микробиологического исследования биомасс и гигиенического мониторинга.

Набор на 250 исследований

CheckLite 250 Plus - набор для микробиологического исследования биомасс и гигиенического мониторинга, основанный на измерении уровня АТФ. Набор содержит термостабильную люциферазу светлячков и АТФ элиминирующий реагент. Набор CheckLite 250 – характеризуется легкостью в использовании и быстротой исследования на общую микробную загрязненность.

Принцип измерения

Билюминисцентный реагент содержит люциферин светлячков и люциферазу. Люцифераза специфически взаимодействует с АТФ и катализирует следующую реакцию.



Количество билюминесценции производимой в данной реакции прямо пропорционально количеству АТФ в образце.

Все живые клетки, включая, клетки микроорганизмов имеют АТФ, как собственный источник энергии. Поэтому общая клеточная масса может быть определено измерена с помощью билюминесценции, основанной на люциферазной реакции, после выделения (экстракции) АТФ из клеток, используя АТФ высвобождающий реагент, который имеется в наборе.

Хранение набора

Набор хранится в холодильнике при 2-8 °С. Не замораживать.

Состав набора

1. Реагент с люциферин-люциферазой «Luciferin-Luciferase reagent»:

5 пузырьков с желто-зеленой этикеткой (содержит D- Люциферин, очищенную светлячковую люциферазу, магнелии соль, TRICINE и ДДТ в лиофилизированной форме)

2. Вода – растворитель «Solvent water»:

5 пузырьков бледно-розового цвета по 5,5 мл – содержит ультра чистую воду для растворения реагента с люциферин-люциферазой.

3. АТФ выделяющий реагент «ATP releasing reagent»

11 мл x 2 пластиковых пузырька светло-голубого цвета этикеткой – содержит сурфактант, используемый для экстракции АТФ из микробных клеток.

Приготовление реагентов

1 Билюминисцентный реагент:

- (1) Реагент с люциферин-люциферазой находится под вакуумом – пузырек с зеленой этикеткой
- (2) Налейте воду - растворитель из бледно-розового пузырька в открытый пузырек желто-зеленого цвета и оставьте в течение нескольких минут при комнатной температуре.
- (3) Помешивайте пузырек аккуратно, чтобы не образовывались комочки. Перемешивайте до полного растворения
- (4) Постарайтесь не дотрагиваться до края горлышка пузырька или верхушки резиновой пробки руками, потому, что иногда это увеличивает показатели бланк уровня реагента.
- (5) В нормальном состоянии один пузырек люциферин-люциферазного реагента может быть использован более чем на 50 исследований.

Дополнительное оборудование (помимо набора)

- (1) Необходим **люминометр** (фотоэлектронный умножитель), используемый для детекции и подсчета фотонов, такой, как Lumitester C – 100 (Kikkoman Corporation) - производит высокочувствительные измерения и дает хорошее соотношение сигнала/шума.
- (2) **Тест тубы**
Полистириновые тест тубы (12 x 55 мм) необходимы для приготовления и измерения образцов.
- (3) **Пипетки и стерильные наконечники**
Необходимы на 100, 1000 мкл.

Инструкция по использованию набора.

1. Концентрация АТФ в живых клетках изменяется очень быстро. Поэтому, необходимо сразу выделить АТФ из клеток, либо заморозить клетки сразу после взятия образца. Даже в случае экстракции, ингибирование или разрушение АТФ – разрушающими ферментами может быть необходимо для предупреждения снижения концентрации АТФ.

2. Приготовление образца

(1) Твердые образцы:

Приготовьте образец в стомаксере или гомогенизаторе и затем используйте раствор для измерения

(2) Жидкие образцы:

Когда жидкий образец мутный, окрашенный или содержит ингибирующие ионы Cl^- , необходимо развести образец.

3. Измерение

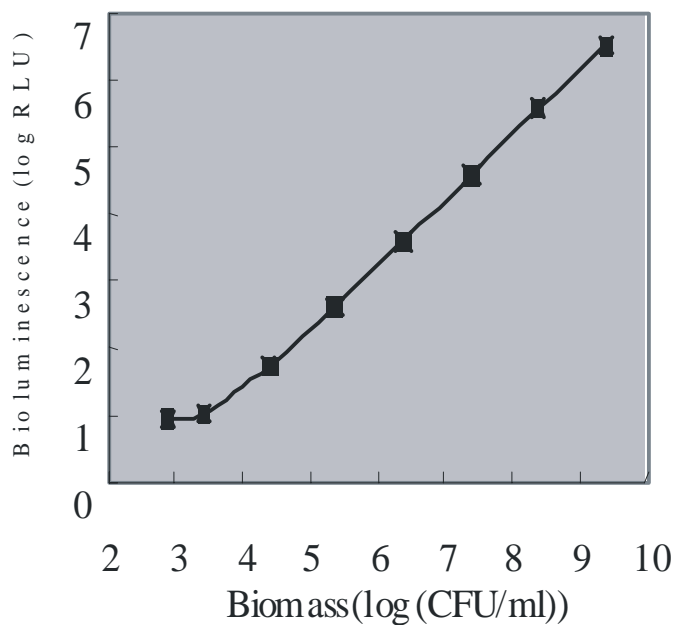
(1) Поместите 100 мкл исследуемого образца и АТФ выделяющий реагент «ATP releasing reagent» в тестируемую тубу.

(2) Оставьте образец при комнатной температуре на 10-60 секунд для выделения АТФ из микробных клеток. Время, необходимое для экстракции варьирует в соответствии с видом микроорганизма. К примеру, оно составляет 10-20 секунд для выделения АТФ из бактериальных клеток и 60 секунд для выделения из дрожжевых клеток.

(3) Немедленно после экстракции, добавьте 100 мкл реагента с люциферин-люциферазой «Luciferin-Luciferase reagent» и произведите измерение уровня билюминесценции на приборе Lumitester C-100/(Kikkoman Corporation № 1002647).

(4) Подсчет количества микробных клеток (КОЕ), которые были обнаружены по данной методике, основан на сравнении соотношения между количеством АТФ (RLU) и числом КОЕ (CFU), полученном ранее в соответствии с традиционной методикой подсчета.

Пример исследования см. ниже.



Внимание

Не допускать попадания реагентов набора на кожу и в глаза. В случае попадания в глаза или на кожу немедленно смыть водой и обратиться к врачу.

Хранить в месте, специально предназначенном для реагентов, защищенном от контакта с детьми. Не допускать контаминации реагентами и исследуемыми образцами пищи или пищевой продукции.