

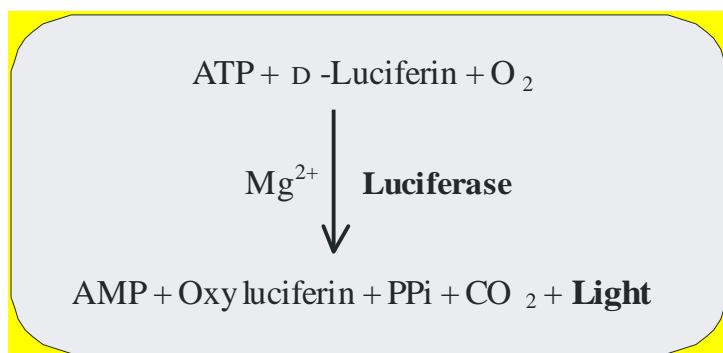
Набор для высоко чувствительного микробиологического исследования биомасс

Набор на 100 исследований

CheckLite HS Set - набор для микробиологического исследования биомасс, основанный на измерении уровня АТФ. Набор содержит термостабильную люциферазу светлячков и АТФ разрушающие ферменты, разработанные Kikkoman Corporation. Набор CheckLite – характеризуется легкостью в использовании, высокой чувствительностью и быстротой исследования на общую микробную загрязненность.

Принцип измерения

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



Количество биолюминесценции 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 биолюминесценции, 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 HS**»:
2 пузырька с темно-зеленой этикеткой (содержит D- Люциферин, очищенную светлячковую люциферазу, магнелии соль, TRICINE и ДДТ в лиофилизированной форме)
2. Восстанавливающий буфер для реагента с люциферин-люциферазой «**Reconstitution buffer for Luciferin-luciferase**»:
2 пузырька с этикеткой розового цвета по 5,5 мл – TRICINE буфер для растворения реагента с люциферин-люциферазой
3. АТФ выделяющий реагент «**ATP releasing reagent**»
5 мл x 2 пузырька с этикеткой светло-голубого цвета – содержит сурфактант, используемый для экстракции АТФ из микробных клеток.
4. АТФ удаляющий реагент «**ATP eliminating reagent**»:

2 пузырька красного цвета этикеткой. Содержит фермент для разрушения АТФ и буферные соли в лиофилизированной форме.

5. Восстанавливающий буфер для АТФ удаляющего реагента «Reconstitution buffer for ATP eliminating reagent»:

5,5 мл x 2 пузырька желтого цвета этикеткой – содержит ультрачистую воду для растворения АТФ удаляющего реагента.

Приготовление реагентов

1 Билюминесцентный реагент «Bioluminescence reagent»:

- (1) Реагент с люциферин-люциферазой находится под вакуумом – пузырек с темно-зеленой этикеткой
- (2) Налейте восстанавливающий буфер из розового пузырька в открытый пузырек темно-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.

2 АТФ удаляющий реагент «ATP releasing reagent»

- (1) АТФ удаляющий реагент находится под вакуумом – пузырек красного цвета этикеткой
- (2) Налить Восстанавливающий растворитель «Reconstitution buffer for ATP eliminating reagent» из пузырька желтого цвета этикеткой в открытый пузырек с красного цвета этикеткой и оставить 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 АТФ удаляющего реагента может быть использован более чем на 50 исследований.

Инструкция по использованию набора.

1. Концентрация АТФ в живых клетках изменяется очень быстро. Поэтому, необходимо сразу выделить АТФ из клеток для исследования, 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 стомахере 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. Разрушение АТФ в исследуемом образце

(1) Поместите 1 мл исследуемого образца в тестируемую трубу.

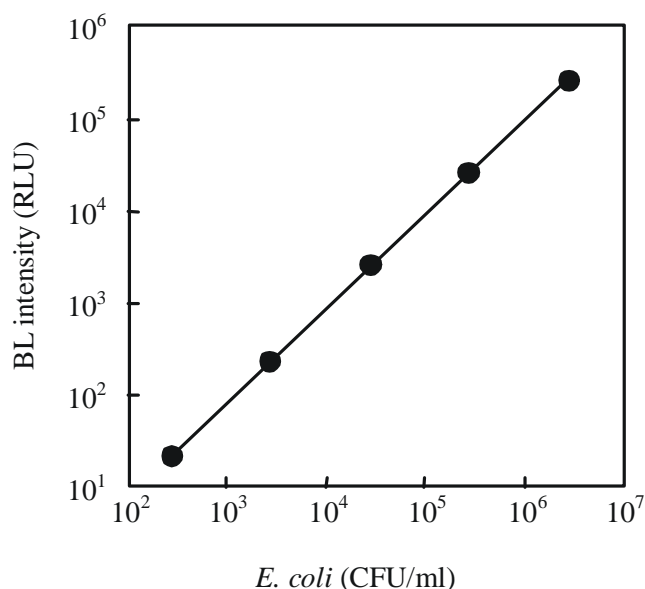
(2) Добавьте 0,1 мл АТФ выделяющего реагента «ATP releasing reagent» в тестируемую трубу и хорошо перемешайте.

(3) Оставьте образец при комнатной температуре на 30 - 40 минут. Это время необходимо для хорошего воспроизведения результатов. Если вы исследуете много образцов, то необходимо соблюсти данный временной режим для каждого.

(4) После данных манипуляций необходимо использовать образцы для билюминесцентного исследования см. ниже.

Измерение.

- (1) Поместите 100 мкл приготовленного исследуемого образца (приготовление см. выше) и добавьте 100 мкл АТФ выделяющего реагента «АТР releasing reagent» в тестируемую трубу.
 - (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 биолюминесценции на приборе Lumitester C-100/(Kikkoman Corporation № 1002647).
 - (4) Для того, чтобы построить график измерения, необходимо сделать последовательные измерения количества биолюминесценции из поэтапных разведений АТФ стандартного раствора в соответствии с методом, описанным выше.
 - (5) 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
- Пример исследования *E.coli* 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.