

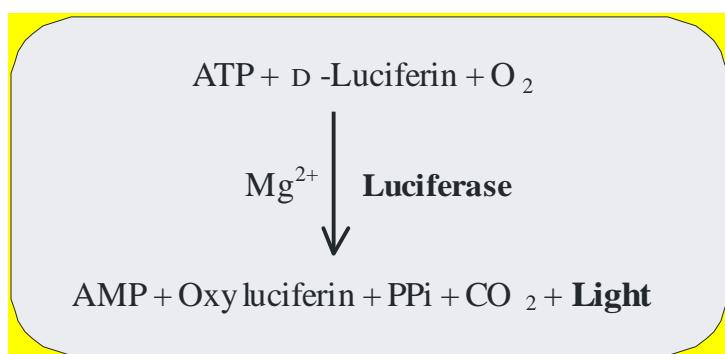
Набор для высоко чувствительного микробиологического исследования биомасс

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 °C. 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, магнезии 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. Восстановливающий 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 Биолюминесцентный реагент «Bioluminescence reagent»:

- (1) Реагент с люциферин-люциферазой находится под вакуумом – пузырек с темно-зеленой этикеткой
- (2) Налейте восстановливающий 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 Восстановливающий 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:

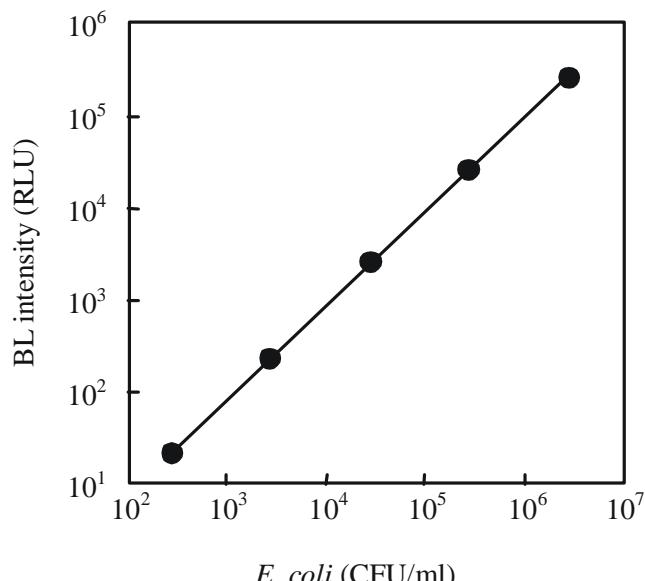
Когда жидкий образец мутный, окрашенный или содержит ингибирующие ионы Cl^- , необходимо развести образец.

3. Разрушение АТФ в исследуемом образце

- (1) Поместите 1 мл исследуемого образца в тестируемую тубу.
- (2) Добавьте 0,1 мл АТФ выделяющего реагента «ATP releasing reagent» в тестируемую тубу 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 биолюминесцентного исследования см. ниже.

Измерение.

- (1) Поместите 100 мкл приготовленного исследуемого образца (приготовление см. выше) и добавьте 100 мкл АТФ выделяющего реагента «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 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), полученным 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.