

## BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒

| 产品编号   | 产品名称                           | 包装    |
|--------|--------------------------------|-------|
| C0052S | BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒 | 100次  |
| C0052M | BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒 | 500次  |
| C0052L | BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒 | 2500次 |

### 产品简介:

- 碧云天生产的BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒(BacTiter-Lumi™ Luminescent Microbial Cell Viability Assay Kit), 简称BacTiter-Lumi或BTL, 是一种通过化学发光法测定微生物细胞内ATP含量从而用于超高灵敏度、超宽线性范围定量检测培养物中具有活力的微生物细胞数目的试剂盒。本产品广泛用于检测细菌、真菌等微生物污染、微生物生长速度和抗微生物化合物活性, 筛选抗微生物化合物, 以及以更高的灵敏度和更宽的线性范围快速定量细菌、真菌等微生物。
- 本产品的用途与碧云天的同类产品BacTiter-Lumi™ Plus Luminescent Microbial Cell Viability Assay Kit (简称BacTiter-Lumi Plus或BTL Plus)及Promega公司的BacTiter-Glo™ Microbial Cell Viability Assay (简称BacTiter-Glo或BTG)基本相同。
- 本产品为all in one的预混液, 可以直接使用, 无需在使用前进行溶液的配制。
- 本产品与BacTiter-Lumi Plus和国外同类产品(Competitor P) 对大肠杆菌(DH5α)和酵母菌(Y187)的检测效果比较参见图1。对大肠杆菌(DH5α)和酵母菌(Y187)的检测, 本产品的发光强度可以达到BacTiter-Lumi Plus的45-65%, 可以达到国外同类产品(Competitor P)的85%和140% (图1), 实测效果会因微生物细胞种类的不同而有所差异。

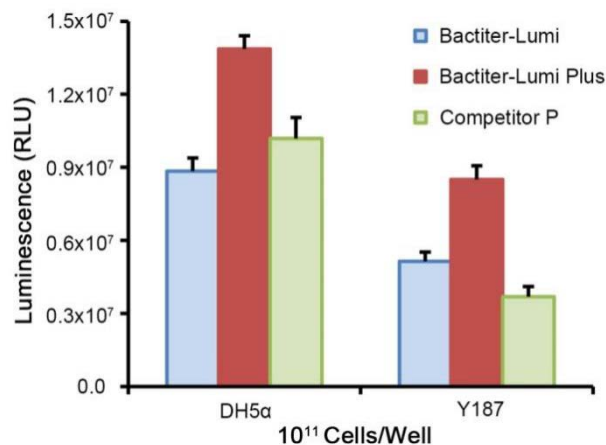


图1. BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒和同类产品BacTiter-Lumi™ Plus Luminescent Microbial Cell Viability Assay Kit (简称BacTiter-Lumi Plus)及国外同类产品 (Competitor P)对大肠杆菌(DH5α)和酵母菌(Y187)的检测效果图。实际读数会因微生物种类、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本产品的检测灵敏度高, 线性范围宽, 对于大肠杆菌(DH5α)和酵母菌(Y187)可以在100到10<sup>11</sup>个菌的范围内呈现良好的线性关系。使用本产品检测大肠杆菌(DH5α)和酵母菌(Y187)时, 菌的数量仅为100个/孔时的信号强度即可以达到空白孔的信号强度的1.1-1.3倍。由于不同微生物细胞中的ATP含量不同, 或者细胞内ATP含量的影响因素如生长阶段、培养基、以及代谢抑制物的存在等, 都会影响微生物细胞数和萤光的关系, 所以不同的微生物细胞的检测数量上下限可能会有显著不同。本产品对大肠杆菌(DH5α)和酵母菌(Y187)的检测效果参见图2。如果样品中微生物细胞的活力比较低, 推荐使用发光强度和灵敏度更高的BacTiter-Lumi™ Plus发光法微生物细胞活力检测试剂盒(C0062)。

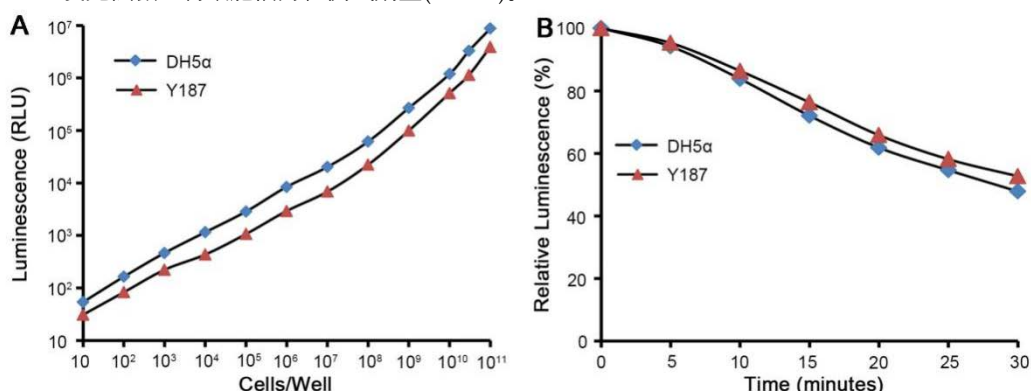


图2. BacTiter-Lumi™发光法微生物细胞活力检测试剂盒对大肠杆菌(DH5a)和酵母菌(Y187)的检测效果图。本产品对不同数量大肠杆菌(DH5a)和酵母菌(Y187)在白色96孔板中的检测效果见图A, 对10<sup>11</sup>个大肠杆菌(DH5a)和酵母菌(Y187)化学发光稳定性的检测效果见图B。孵育时间均为20分钟, 实际读数会因微生物种类、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本产品操作简单, 读数稳定, 检测速度快, 完成检测仅需约5-25分钟。**本产品比CCK-8等其它微生物活力测定方法更加简单快捷。只需把试剂盒提供的单一即用型试剂BacTiter-Lumi™发光法检测试剂与例如培养在培养基中的微生物样品等体积混合, 反应5-25分钟后即可进行化学发光检测, 一般5分钟即可, 但20-25分钟时发光信号更稳定。无需洗涤细胞, 也无需更换或去除培养液。并且化学发光比较稳定, 其信号半衰期随菌株和培养基等的不同而有所差异, 一般超过20分钟。
- **本产品稳定性好。**本试剂盒中的BacTiter-Lumi™发光法检测试剂稳定性好, 反复冻融5次对检测效果基本无影响, 反复冻融10次检测效果下降不超过10%。本产品4°C保存1天对检测效果无显著影响, 4°C保存3天检测效果下降不超过10%, 4°C保存7天检测效果下降不超过30%。室温保存1天, 仍可保留50%以上的检测效果。
- **本产品使用灵活便捷。**本产品不仅可以用于单管检测, 也可用于多孔板形式的高通量筛选(high-throughput screening)检测。
- **本产品特别适用于对微生物的超高灵敏度监测。**BacTiter-Lumi™检测的超高灵敏度和超宽线性能够接种后立即监测大肠杆菌的生长。分别用BacTiter-Lumi™检测方法和吸光度法监测和对比大肠杆菌(DH5a)的增殖情况, 检测效果参考图3。用酶标仪在600nm测定吸光度, 用BacTiter-Lumi™检测菌液的荧光发光。大肠杆菌接种后1.5小时吸光度值才会有明显的差异, 而BacTiter-Lumi™检测在接种后立即检测荧光信号, 即可达到空白培养基的荧光信号的5-10倍左右, 发光信号的差异可能会因为微生物细胞种类、微生物接种密度、微生物培养液等条件的不同而略有差异。

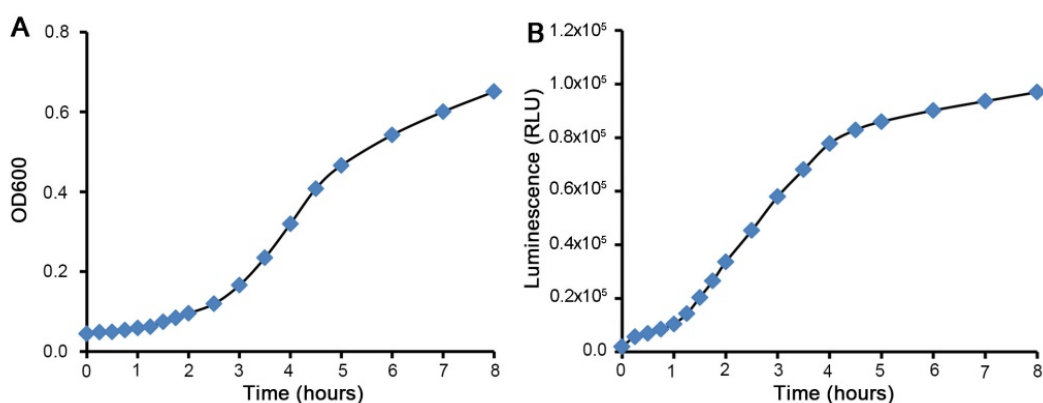


图3. BacTiter-Lumi™发光法微生物细胞活力检测试剂盒对大肠杆菌(DH5a)的生长监测效果图。将过夜培养的大肠杆菌按照1:100的比例接种于新鲜的LB培养基中, 250rpm振荡37°C培养, 在不同时间点取样后4°C保存, 与最后一个点取样后一起检测。200μl样品加入透明的96孔板用酶标仪测定OD600, 100μl样品加入BeyoGold™全白96孔细胞培养板(FCP968)用BacTiter-Lumi™检测菌液的活力。吸光度法测定大肠杆菌增殖情况见图A, 本产品测定大肠杆菌的增殖情况见图B。实际读数会因微生物种类、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- ATP, 作为最重要的能量分子, 在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP是细胞新陈代谢的一个重要指标, 也是具有代谢活性细胞的重要标志性分子, 并和活细胞数目成良好的线性关系。每个活的微生物细胞中ATP的含量大致相同, 微生物细胞死亡后, ATP迅速分解, 不会对活体微生物的测定产生影响。因此, ATP含量能很好地反应微生物活细胞的数目, 即本试剂盒可以通过测定ATP含量来检测微生物细胞活力。
- 本试剂盒通过ATP检测微生物细胞活力的原理参见图3。借助ATP依赖的萤光素酶催化的萤光素发光反应, ATP可以通过测定化学发光强度来进行定量。由于ATP含量能很好地反映微生物活细胞的数目, 而ATP含量和发光强度成正比, 这样就可以简单地通过化学发光强度来计算出微生物细胞活力或微生物细胞数目。

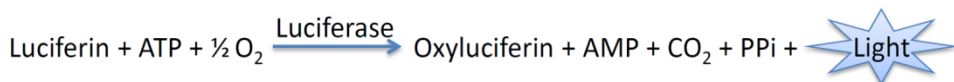


图4. BacTiter-Lumi™ 发光法微生物细胞活力检测试剂盒检测ATP的原理图。

- 本产品可以用于检测液体培养物中微生物的总体活力, 也可以用于检测水、饮料、食品、器皿表面等是否存在微生物污染超标的问题。
- 对于96孔板, 推荐使用100μl微生物细胞培养液和100μl的检测试剂, 总体积为200μl, 此时本试剂盒每10ml可以进行100次检测。对于384孔板, 推荐使用25μl微生物细胞培养液和25μl的检测试剂, 总体积为50μl, 此时本试剂盒每10ml可以进行400次检测。也可以用其它体积的试剂进行检测, 但微生物培养液和检测试剂体积的比例须为1:1。

**包装清单:**

| 产品编号   | 产品名称                  | 包装       |
|--------|-----------------------|----------|
| C0052S | BacTiter-Lumi™发光法检测试剂 | 10ml     |
| C0052M | BacTiter-Lumi™发光法检测试剂 | 10ml × 5 |
| C0052L | BacTiter-Lumi™发光法检测试剂 | 50ml × 5 |

|   |     |    |
|---|-----|----|
| — | 说明书 | 1份 |
|---|-----|----|

## 保存条件：

-20°C避光保存，至少一年有效。

## 注意事项：

- 本试剂盒的检测试剂中含有萤光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。尽管经测试本试剂反复冻融5次对于其检测效果无显著影响，为取得良好的使用效果，第一次解冻后可适当分装保存，但需注意分装的容器不能有ATP污染。反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，可以离心去除后使用，经测试不会显著影响后续的检测效果。
- 由于萤光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前微生物样品和检测试剂均需平衡至室温后再进行测定。可将检测试剂在室温或不超过25°C的水浴中融解并混匀后使用。多孔板中培养的微生物也同样需要充分平衡至室温，否则多孔板中心的孔和四周的孔之间会存在温度梯度，从而影响萤光的信号强度和信号稳定性。
- 待测的各种抗微生物活性的化合物的溶剂含量较高时可能会干扰萤光素酶反应，从而影响化学发光信号。可以通过设置含有溶剂的微生物培养液对照孔排除溶剂的干扰。经测试，最终检测体系中DMSO含量在2%以内不会对反应产生影响。
- 请使用适合于微生物培养的白色或黑色的96孔板或384孔板。如果使用普通透明的96孔板或384孔板，化学发光检测时相邻孔之间会产生相互干扰。推荐使用碧云天的BeyoGold™全黑96孔细胞培养板(FCP966)或BeyoGold™全白96孔细胞培养板(FCP968)。
- 使用说明中提供了检测ATP标准品的方法，实际检测微生物细胞活力时通常并不需要检测ATP标准品。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

### 1. 检测试剂的准备：

- 融解冻存的BacTiter-Lumi™发光法检测试剂，如有必要可适当分装该试剂。经测试反复冻融5次对其检测效果无显著影响。
- 按照96孔板每孔100μl(384孔板每孔25μl)的量，取适量BacTiter-Lumi™发光法检测试剂，平衡至室温。

### 2. 微生物样品的准备：

- 多孔板培养的微生物样品的准备。  
使用适合进行化学发光检测的96孔板，每孔加入100μl培养的微生物样品(如使用384孔板，每孔加入25μl微生物样品，具体用量视不同类型的384孔板而定)，同时设置不含微生物样品的培养液孔作为阴性对照。如有需要，可加入具有抗微生物活性的药物处理微生物适当时间。此外，如有必要，也可以设置微生物的浓度梯度，以便精确计算药物的IC50及确定试剂盒的使用效果。
- 微生物污染样品的准备。  
使用适合进行化学发光检测的96孔板，每孔加入100μl培养的微生物培养液，如LB等。如使用384孔板，每孔加入25μl微生物培养液，具体用量视不同类型的384孔板而定。设置不含微生物样品的培养液孔作为阴性对照。采用采样拭子、采样棒、采用棉签或采用小纸片等采集样品，并加入到微生物培养液孔中，适当晃动使采集的微生物充分释放到培养液中。根据检测灵敏度的要求，后续直接用于微生物细胞活力检测，或者适当培养约30分钟至数小时甚至也可以过夜后再进行后续的微生物细胞活力检测。

### 3. 微生物细胞活力检测：

- 将待检测的含有微生物样品的多孔板充分平衡至室温。
- 96孔板每孔加入100μl BacTiter-Lumi™发光法检测试剂(384孔板每孔加入25μl)。
- 使用有震动混匀功能的酶标仪或多孔板震荡混合仪等设备振荡混匀，室温(约25°C)孵育5-25分钟，使发光信号趋于稳定。
- 使用具有检测化学发光功能的多功能酶标仪进行化学发光检测。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。
- 根据化学发光读数直接计算微生物样品的相对活力，也可以设置ATP标准曲线，并根据ATP标准曲线计算出样品中ATP的量从而计算出微生物样品的相对活力。对于微生物污染样品的检测，可以根据样品和阴性对照之间差异的显著性来判断是否存在微生物污染以及微生物污染的严重程度。

## 常见问题：

### 1. Luminometer和荧光分光光度计有何不同？

荧光分光光度计检测的样品本身不能发光，样品需要由特定波长的激发光激发，然后才能产生荧光并被荧光分光光度计检测。Luminometer检测的样品本身可以发光，不需要激发光进行激发。也就是说luminometer是检测化学发光(萤光)的仪器。有些型号的荧光分光光度计也具有luminometer的功能，即也可以检测化学发光。您所使用的荧光分光光度计能否用于化学发光的测定请仔细阅读该仪器的说明书。

### 2. 可以进行萤光素酶报告基因检测的仪器是否就可以用于本试剂盒的检测？

是。萤光素酶报告基因的检测原理和本试剂盒的原理相同，可以用相同的仪器测定。