

## ルシフェラーゼ FM プラス取扱説明書

製品名：ルシフェラーゼ FM プラス (高感度 ATP 検出キット)

Code： BENX0010

内容量： 80 回分

価 格： ¥40,000-

製造元： 株式会社バイオエネックス

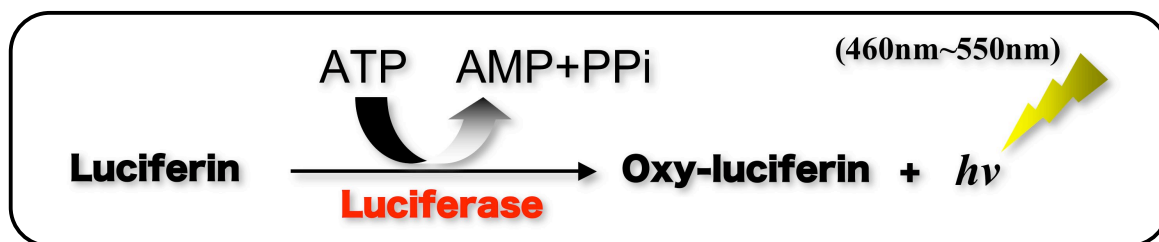
保存方法： 4 °Cにて暗所保存

## ■内容

- ・ ルシフェラーゼ FM プラス 酵素試薬凍結乾燥品 (40 回 x 2 本)
- ・ 滅菌水 30ml

## ■製品説明

ホタル由来のルシフェラーゼは、アデノシン三リン酸 (ATP) と D-ルシフェリンから、高効率で光を発生させます。この生物発光技術は ATP の検出に応用されています。ルシフェラーゼ FM プラス (高感度 ATP 検出キット) は、当社製品ルシフェラーゼ FM により蓄積した高感度 ATP 検出技術をもとに、簡便に ATP を高感度測定できるようにしたキットです。本製品と市販の発光測定装置を組み合わせることにより、誰でも簡単に高感度な ATP 測定検査が可能です。



(図 1) ホタルルシフェラーゼによる発光反応

## ■標準プロトコール

## 使用例 1) ATP の定量

## 実験手順

## ① 発光試薬の調製

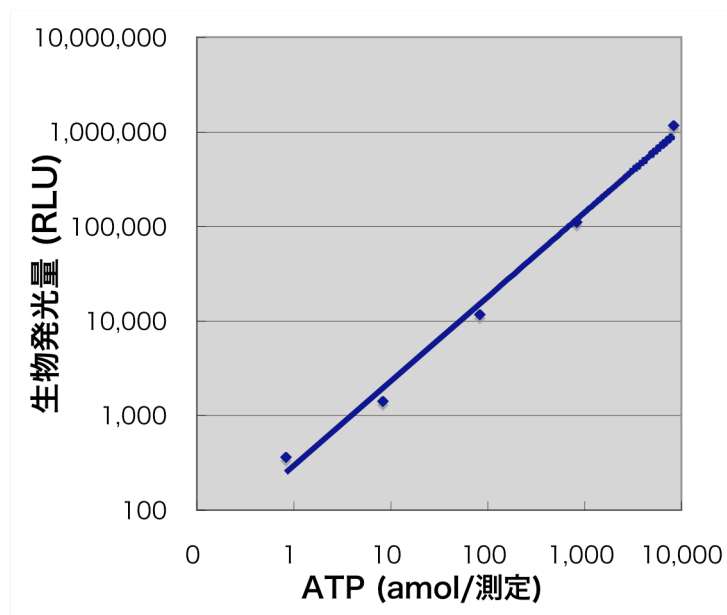
1. LUCIFERASE FM プラス凍結乾燥品に超滅菌水 2 mL を加える。
2. 5 分ほど室温で静置した後、検出試薬をよくピペットを用いて攪拌する。

**② ATP の定量 (検体数が少ない場合)**

①で調製した発光試薬 45 $\mu$ L をルミチューブ (キッコーマン) に入れ、調製した ATP 溶液 5  $\mu$ L を加え、発光量を測定する (発光量は添加後 5 秒後をピークに減少します、すみやかに計測してください)。ルミテスター-C-1000 (キッコーマン、測定時間 10 秒間) で測定した結果を示す。(図 2)。

**②' ATP の定量 (検体数が多い場合)**

調製した ATP 溶液 5  $\mu$ L を 96 穴マイクロプレート (Nunc、黒) に入れ、①で調製した発光試薬 45 $\mu$ L をインジェクターから加えた時の発光量を、ARVO MX (パーキンエルマー、測定時間 5 秒間) で測定する。



(図 2) ATP 検量線

**使用例 2) 高感度発光試薬による微生物 ATP 測定****実験手順****① 発光試薬の調製**

1. LUCIFERASE FM プラス凍結乾燥品に超滅菌水 2 mL を加える。
2. 5 分ほど室温で静置した後、検出試薬をよくピペットを用いて攪拌する。

**② 微生物検体の調整**

1. 微生物懸濁液を 1.5 mL 微量遠心管に 0.5 mL 採取し、遠心 (15,000rpm, 3min、室温) して上清を棄てる。
2. 沈殿に添付の滅菌水 0.5 mL を加え懸濁後、再び遠心 (15,000rpm, 3min、室温) して上清を棄てる (菌体洗浄)。

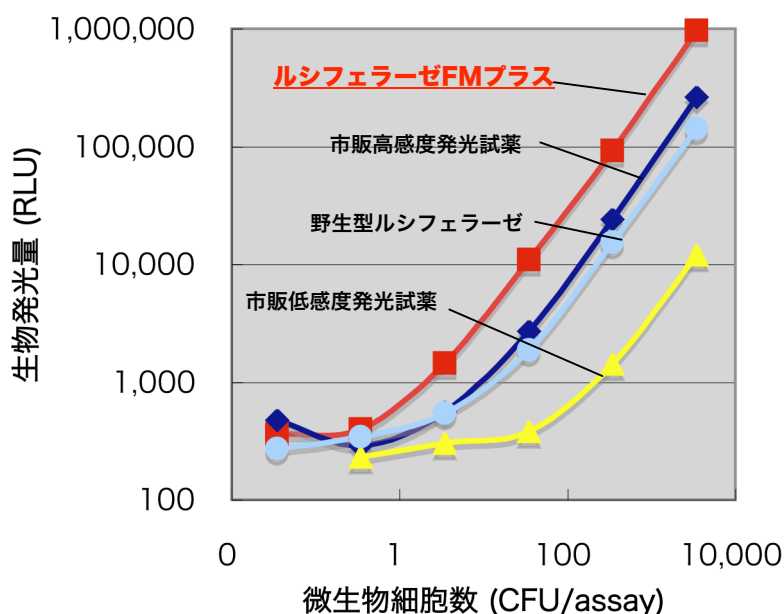
3. 再度、沈殿に滅菌水 450 $\mu$ L を加え懸濁し、50 $\mu$ L の ATP 抽出液 (0.1%塩化ベンザルコニウム溶液、添付の滅菌水で調製) を加えて室温で 5 分間静置する。
4. これを測定用試料とする。

### ③ 微生物 ATP の定量 (検体数が少ない場合)

①で調製した発光試薬 45 $\mu$ L をルミチューブ (キッコーマン) に入れ、②で調製した菌体 ATP 試料 5  $\mu$ L を加えて発光量を測定する。ルミテスターC-1000 (キッコーマン、測定時間 10 秒間) で測定した結果を示す。(図 3)。

### ③' ATP の定量 (検体数が多い場合)

②で調製した ATP 溶液 5  $\mu$ L を 96 穴マイクロプレート (Nunc、黒) に入れ、①で調製した発光試薬 45 $\mu$ L をインジェクターから加えた時の発光量を、ARVO MX (パーキンエルマー、測定時間 5 秒間) で測定する。



(図 3) 微生物 ATP 量の測定

\* ここに示した実験結果は参考であり、酵素活性や ATP 検出性能を保証するものではありません。

注 1) ルシフェラーゼによる発光反応は、温度やサンプルの組成によって発光量が変化します。

## ■保存

開封前：直射日光を避け、4 $^{\circ}$ C (長期保存の場合-18 $^{\circ}$ C) で保存してください。

開封後：酵素溶液を調製した後は氷上で取り扱い、なるべく速やかに使用してください。溶液状態で保存した場合、酵素活性が低下するため、開封後は一度で使い切ることをお勧めします。も

し保存される場合、活性を保証できませんが、小分けして-18℃で保存ください。

## ■廃棄

本製品の容器はガラス、ゴム、プラスチックの材質からなっています。また、包装材はポリエステル、アルミ、ポリエチレンの三層フィルム製、酸素吸収剤は金属粉、乾燥剤はシリカゲルからなっています。廃棄の際は、各種分別し、都道府県、市町村が定める廃棄物の適正処理に従い廃棄処理してください。

## ■取り扱い上の注意

- ・ 本製品は日本国内における研究用途に限ります。
- ・ 使用期限が切れた製品は使用しないでください。
- ・ 本製品は凍結乾燥後、陰圧で密栓してあります。ゴム栓を強い力で開けますと、急激に空気が入り込み、内容物が飛散する恐れがありますので、ゆっくりとゴム栓を持ち上げ、切り込み部分から空気を入れるようにして開栓してください。
- ・ 本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品などとして使用しないでください。
- ・ 本製品の試薬類を使用前後に口に入れたり、素手で触れたり、目に入れたりしないでください。口に入れた場合は、口をよくすすいだ後、皮膚についた場合は、大量の水で洗浄した後、また目に入れた場合は大量の水で洗浄した後、医師に連絡を取り、指示を受けてください。
- ・ 本製品の容器及び試薬が食品などへ混入しないよう、保管、廃棄に充分ご注意ください。
- ・ 本製品は幼児の手の届かないところに保管してください。

## ■保証

製造元では、本製品に不具合があった場合代替の製品を提供する事を保証しますが、それ以外の保証はいたしません。製造元は特別な、若しくは結果として生じる損害または間接的に生じる費用を含むいかなる損害にも責任を負いません。

製造元・お問い合わせ先:

### 株式会社バイオエネックス

〒739-0046 広島県東広島市鏡山 3 丁目 10-31 広島大学産学連携センター インキュベーションオフィス内

TEL・FAX: 082-421-3758 E-mail: info@bioenex.co.jp