

NucleoCounter YC-100

Hefezellzahl Hefeviabilität



INSTRUMENTS



IUL Instruments GmbH
Königswinterer Str. 399
53639 Königswinter

Tel.: 02223-9192-0
Fax: 02223-9192-48
info@iul-instruments.de
www.iul-instruments.de

Schnelle und genaue Hefeanalyse mit dem NucleoCounter® YC-100™

Der NucleoCounter® YC-100™ ist wartungsfrei und muss nicht kalibriert werden – dadurch ist er extrem anwenderfreundlich und zuverlässig. Er ist besonders gut geeignet für Routineanalysen von Hefeproben.

Der NucleoCounter® YC-100™

ChemoMetec A/S hat eine neue Technologie entwickelt und patentieren lassen, die die Probleme der konventionellen Routinezellanalyse löst. Das integrierte Fluoreszenzmikroskop im NucleoCounter® YC-100™ kann Signale einzelner Hefezellen detektieren. Der NucleoCounter® YC-100™ misst direkt die Zellkonzentration der Probe mit einer wesentlich besseren Genauigkeit als indirekte Methoden.

NucleoCounter® YC-100™ ist für beides, den Einsatz in der Forschung und in der Produktion, entwickelt worden. Die einfache Handhabung und die besondere Kombination von Geschwindigkeit und Präzision werden den Anwender sowohl bei komplexen Forschungsaufgaben als auch bei Routinemessungen überzeugen.

Die Hauptvorteile des NucleoCounter® YC-100™ sind seine Schnelligkeit, hohe Genauigkeit, geringer Wartungsbedarf und keine Notwendigkeit der Kalibrierung.



So einfach geht das

Das System besteht aus dem NucleoCounter® YC-100™ Fluoreszenzmikroskop, der NucleoCassette™, die den immobilisierten Farbstoff enthält, und dem Reagenz Y100 für die Probenvorbereitung. Die NucleoView-Software bietet Dokumentation, Datenverarbeitung und Bildpräsentation, dabei kann das Gerät aber auch ohne PC eingesetzt werden. Außerdem kann der NucleoCounter® YC-100™ zu Dokumentationszwecken auch direkt mit einem optionalen Drucker verbunden werden.

Der NucleoCounter® YC-100™ ist für die schnelle Analyse von Hefen, wie sie in Brauereien eingesetzt werden, geeignet.

Das NucleoCounter® YC-100™ - System zur Zellzahlbestimmung

Der Kern des Systems ist ein neues, integriertes Fluoreszenzmikroskop, das aus einer Anregungslichtquelle (LED), der Optik (Linsen, Anregungs- und Emissionsfilter) und einer CCD-Kamera besteht. Das Fluoreszenzmikroskop ist für die Anregung des Fluoreszenzfarbstoffes Propidium Iodid (PI) optimiert, da intensives grünes Licht für die Anregung verwendet wird und die nachfolgende Rotlichtemission des in den Zellen gebundenen DNA-Farbstoffes mit

der CCD-Kamera detektiert wird. Detektierte Signale korrelieren direkt mit der Zellzahl, welche auf dem Gerätedisplay angezeigt wird. Außerdem können das Bild und das Ergebnis auf Ihren PC geladen werden, um dann mittels der mitgelieferten NucleoView-Software angeschaut und dokumentiert zu werden. Darüber hinaus kann das Gerät an einen Drucker angeschlossen werden.

Die Handhabung des NucleoCounter® YC-100™

Im Vergleich zu den indirekten Methoden der Hefeanalyse ist der NucleoCounter YC-100 schnell, effizient und zuverlässig. Die Zellzahlbestimmung mit dem NucleoCounter YC-100 besteht aus zwei Schritten: Probenvorbereitung und Messung. Während der Vorbereitung kann die Probe auf eine Konzentration zwischen 1×10^5 bis 1×10^7 Zellen/ml verdünnt werden. Dann wird ein Lysispuffer zugegeben und die Zellmembranen werden aufgeschlossen, um die DNA der einzelnen Zellen für die Reaktion mit dem Propidiumiodid (PI) freizulegen. Das Lysat wird anschließend in die NucleoCassette geladen und dort gefärbt. Die Kassette wird dann in das Gerät eingesetzt. Während der Messung wird das Lichtsignal, das vom gebundenen PI abgegeben wird, detektiert und die Zellen werden im integrierten Rechner gezählt. Die Zellzahl des Lysates wird im Display als Zellen/ml dargestellt.



Probenvorbereitung - 20 Sekunden

- 1. Eine Zellsuspension (verdünnt oder unverdünnt) wird in ein Probenröhrchen pipettiert; dabei liegt das Volumen zwischen 50 und 500 µl. Lysispuffer wird zugegeben (Verdünnungsfaktor zwischen 1+1 und 1+9).



Laden der Probe – 10 Sekunden

- 2. Das Zelllysate wird in die NucleoCassette geladen, indem die Spitze der Kassette in die Suspension eingetaucht und durch Knopfdruck aufgesaugt wird.



Analyse der Probe – 30 Sekunden

- 3. Die Kassette wird in den NucleoCounter YC-100 eingesetzt und der „Start“-Knopf gedrückt. Nach ca. 30 Sekunden wird die Gesamtzellkonzentration im Display angezeigt. Die Daten werden optional auf einen externen PC geladen oder über den externen Drucker ausgedruckt.



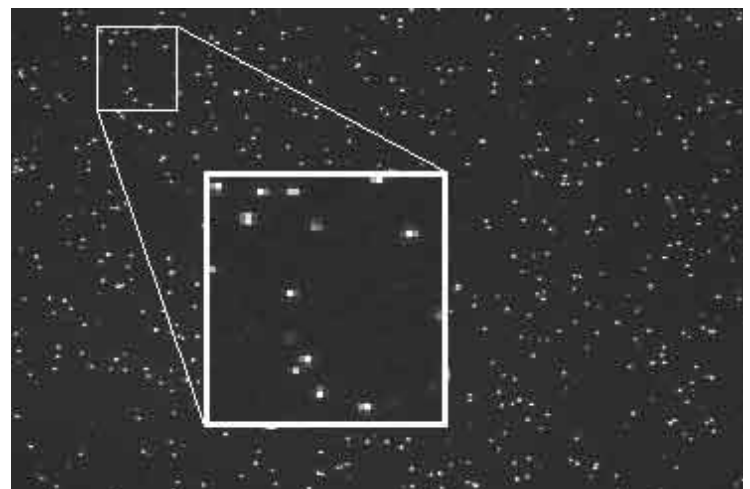
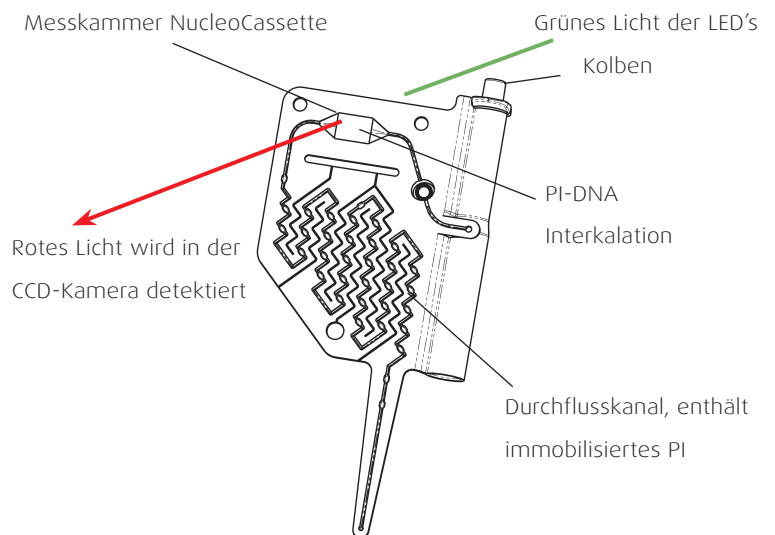
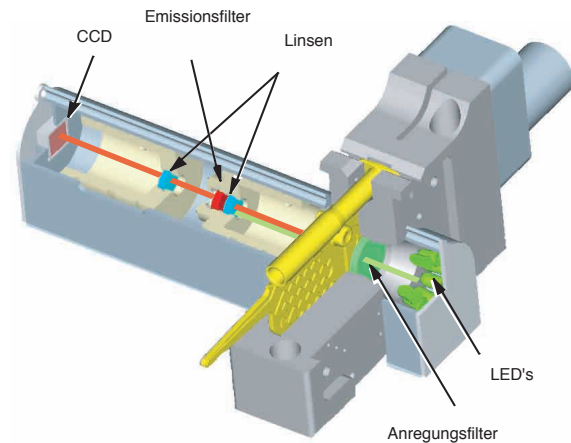
chemometec

Das NucleoCounter® YC-100™ Fluoreszenzmikroskop

Im Inneren des NucleoCounter YC-100 befindet sich ein Fluoreszenzmikroskop. Die NucleoCassette wird in den Fokus des Mikroskops positioniert, indem sie in die dafür vorgesehene Halterung geschoben wird. Das grüne Licht der LED's regt das interkalierte Propidiumiodid in den Zellkernen an. Der Filter für die Anregung lässt das grüne Licht passieren und der Emissionsfilter das abgegebene rote Licht. Die CCD-Camera auf der linken Seite registriert das emittierte rote Licht und die Signale werden mit der Zellzahl korreliert. Die Vergrößerung beträgt etwa $\times 1,3$.

Die zelluläre DNA wird innerhalb der NucleoCassette gefärbt. Die Kassette wird in den NucleoCounter YC-100 eingesetzt, wo anschließend die gefärbte Suspension in die Messkammer der NucleoCassette überführt wird. Grünes Licht wird zur Anregung des interkalierten Farbstoffes verwendet und das emittierte, mit der Zellzahl korrelierende rote Licht von der CCD-Kamera detektiert.

Die patentierte Methode der niedrig-auflösenden Mikroskopie bietet im Vergleich zu anderen Methoden der Zellzählung mehrere Vorteile. Der große Bildausschnitt erlaubt es dem Anwender, in einer einzigen Aufnahme ein relativ großes Probenvolumen zu analysieren. Die begrenzte Wiedergabegröße der aufgenommenen Zellen im Vergleich zu den Größen der einzelnen Bildelemente (siehe vergrößerter Bildausschnitt) erfordert nur eine eingeschränkte Qualität des Bildwiedergabesystems. Darüber hinaus können Zellen über eine längere Zeit hinweg abgebildet werden, ohne dass geringe Zellbewegungen während der Aufnahme das Bild stören würden.



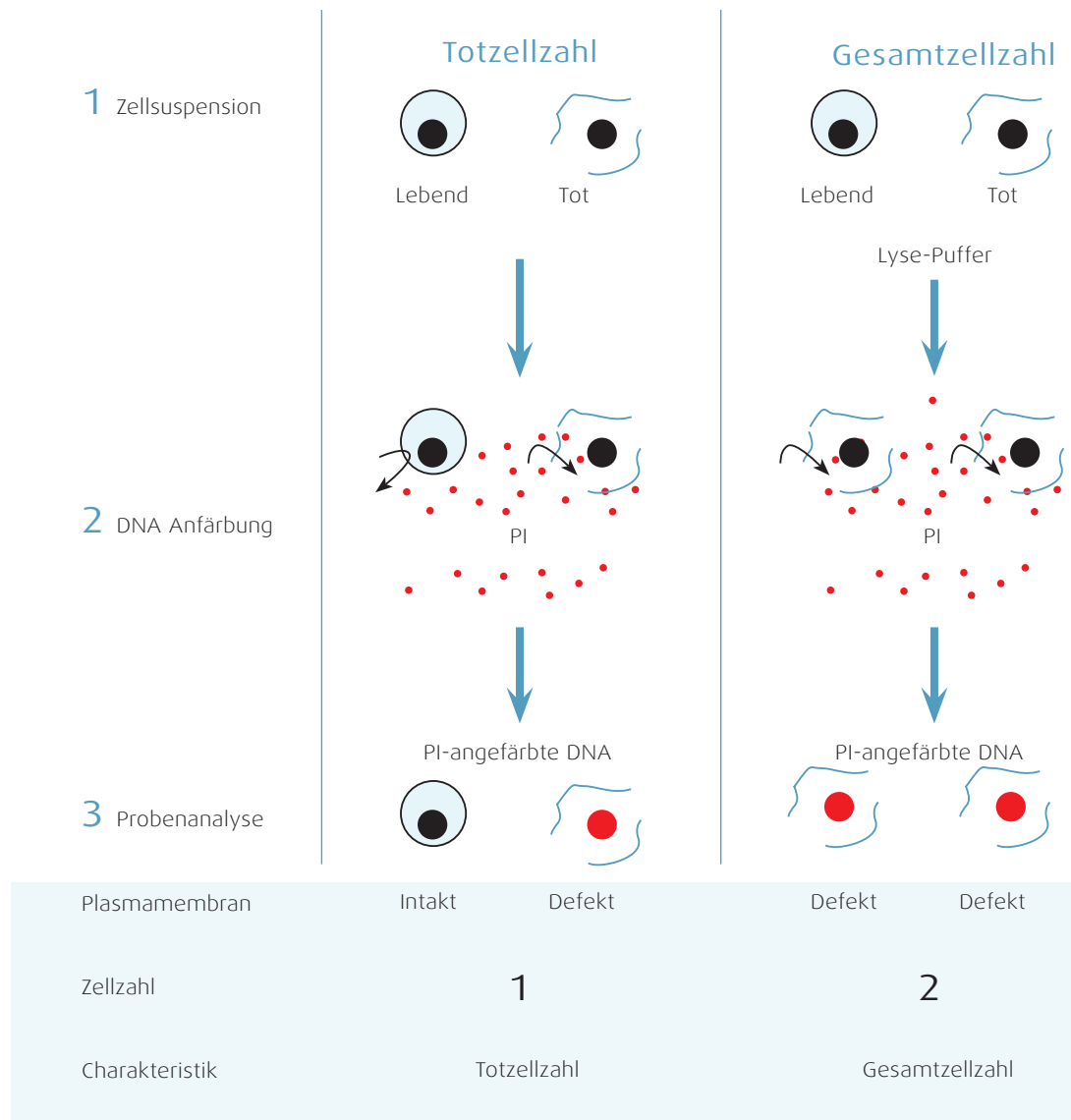
Das Anfärben der zellulären DNA mit Propidiumiodid

Propidiumiodid

Propidiumiodid (PI) ist ein fluoreszierendes Molekül und ein hochspezifischer Farbstoff für DNA. PI interkaliert in hohem Maße mit doppelsträngiger DNA (dsDNA). Nachdem PI mit der DNA interkaliert hat, verändern sich sowohl die Anregungs- als auch die Emissionswellenlänge und die Effizienz der Fluoreszenz wird um ein 20- bis 30-faches gesteigert im Vergleich zu freiem PI.

Ausschluss von der Propidiumiodidanfärbung

Die DNA von lebenden Zellen mit intakter Zellmembran wird praktisch nicht durch PI angefärbt. Deshalb müssen die Zellmembranen von lebenden Zellen vor der Analyse aufgeschlossen werden. Hingegen ist die Membran toter Zellen durchlässig für PI und somit auch ohne Aufschlussverfahren anzufärben.



Lebendzellzahlbestimmung durch die Propidiumiodid-Ausschlussmethode

Nach der Methode des Ausschlusses von der Propidiumiodidanfärbung (PIE) zusammen mit der Bestimmung der Gesamtzellzahl kann bei Zellsuspensionen das Verhältnis von lebenden zu toten Zellen geschätzt werden. Diese Bestimmung der Lebendzellzahlen wird auch beeinflusst durch die PI-Durchlässigkeit der Membranen in einzelnen Zellen.

Aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften der verschiedenen Methoden für die Bestimmung der Lebendzellzahlen können unter bestimmten Bedingungen abweichende Ergebnisse erreicht werden. Diese Unterschiede in der Lebendzellzahl spiegeln Differenzen in den Methoden wieder, z.B. die Reaktion auf physiologischen oder chemischen Zustand der Zellen oder der Zellsuspension.

NucleoCounter® YC-100™ - die Hauptvorteile

- **Schnell und einfach**

Die Analyse dauert weniger als 30 Sekunden. Der Vorgang ist simpel und kann von allen Mitarbeitern des Labors gelernt werden. Das Gerät muss nicht täglich gesäubert oder kalibriert werden und ist wartungsfrei.
- **Hohe Genauigkeit**

Der NucleoCounter YC-100 zählt einzelne Zellen mit hoher Genauigkeit. Die Reproduzierbarkeit ist im Prinzip gleich der Wiederholbarkeit.
- **Größte Präzision**

Die Präzision des NucleoCounter YC-100 ist sehr hoch: durch die große Anzahl der analysierten Zellen liegt die Abweichung bei unter 5%.
- **Integrierbarkeit**

Der NucleoCounter YC-100 ist klein und einfach und schnell zu bedienen: dadurch ist das Gerät ideal in jedes Laborumfeld zu integrieren.
- **Direkte Zellzahlbestimmung**

Die Ergebnisse des NucleoCounter YC-100 beruhen auf direkter Bestimmung der Zelldichte, im Gegensatz zu indirekten Methoden der Zellzahlbestimmung.
- **Keine Kalibrierung nötig**

Das optische System des NucleoCounter YC-100 wird während der Herstellung kalibriert. Dieses System wird während der Lebensdauer des Gerätes nicht verändert. Und die NucleoCounter Kassetten werden einzeln während des Produktionsprozesses kalibriert.
- **Wartungsfrei**

Der NucleoCounter YC-100 wird mit äußerst lange haltbaren Komponenten hergestellt, wie z.B. LED's als Lichtquelle und einer CCD-Kamera zum Detektieren des Signals.
- **Sichere Entsorgung der Proben**

Die NucleoCounter Kassetten sind Einwegartikel und können sicher und sauber als Laborabfall entsorgt werden.
- **Höchste Zuverlässigkeit**

Mit größter Sorgfalt wurde bei der Entwicklung NucleoCounter YC-100 auf die Zuverlässigkeit des Gerätes geachtet.
- **Anwendersicherheit**

Das potenziell gesundheitsgefährdende Propidiumiodid ist sicher in der Kassette eingeschlossen; somit ist für den Anwender optimale Sicherheit garantiert.
- **Spezifische und etablierte Methode**

Die Verwendung des DNA-bindenden Farbstoffes Propidiumiodid gewährleistet die Detektion eines hochspezifischen Signals.
- **Kleines Probenvolumen**

Kleinste Volumina (bis hinunter auf 50 µl) reichen für die Analyse aus.
- **Dokumentation**

Die mitgelieferte NucleoView-Software ist ideal für die Datenverarbeitung und Dokumentation der Analysenergebnisse.
- **Kompaktes Gerät**

Der NucleoCounter YC-100 passt aufgrund seiner geringen Größe in jedes Labor (38x26x22 cm und 3 kg).



Spezifität

Der NucleoCounter YC-100 zählt individuelle Zellen, die zuvor mit einem DNA-spezifischen, fluoreszierenden Farbstoff, Propidiumiodid, angefärbt wurden.

Analysendauer

Nachdem „run“ gedrückt wurde wird das Analysenergebnis innerhalb von 30 Sekunden angezeigt.

Messbereich

Der Messbereich liegt bei 5×10^3 bis 2×10^6 Zellen/ml Lysat, der optimale Messbereich liegt bei 1×10^4 bis 2×10^6 Zellen/ml Lysat.

Bedienung

Anhand von Menüs, über eine Tastatur und die LCD-Anzeige.

Maße

Gewicht	3 kg
Höhe	26 cm
Breite	38 cm
Länge	22 cm

Stromversorgung

Extern 11-13 VDC Netzteil

Stromverbrauch

in Betrieb	25 W
Einsatzbereit	2.5 W
Bereitschaft	2 mW

Bedienungshinweise

Nur im Innenbereich zu verwenden. Die Luftfeuchtigkeit darf bei Temperaturen bis 31°C 80% nicht überschreiten, lineare Abnahme der zulässigen Luftfeuchtigkeit bis hinab auf 65% bei einer Umgebungstemperatur von 35° C. Zulässige Minimaltemperatur 15°C.

USB

USB Version 1.1.

Bemerkung: Unterstützung von USB-Hubs variiert abhängig vom Modell.

Reagenzien

Jede Kassette enthält ca. 3 µg Propidiumiodid (PI).

Lagerung

Die Kassetten sollten in einem verschlossenen Beutel bei maximal 30° C aufbewahrt werden.

Haltbarkeit

Mindestens 12 Monate.

Systemanforderungen**Die NucleoView™ Software**

Windows 2000 Betriebssystem.

Windows 2000 kompatibler Rechner, USB-Schnittstelle 1.1.

The information contained herein is to the best of our knowledge accurate and complete. However cell species and cell environments may vary in property. Therefore systematic and/or random deviation between estimates obtained by the NucleoCounter® YC-100™ and other cell counting methods may occur. As such, nothing contained or stated herein, including results obtained from use of the NucleoCounter® YC-100™ or NucleoCassette™, shall be construed to imply any warranty or guarantee. ChemoMetec A/S and affiliated companies shall not be held liable for damages, and customers shall indemnify ChemoMetec A/S and affiliated companies against liability flowing from use of potentially inaccurate data generated by the NucleoCounter® YC-100™. It is recommended that all results obtained with the NucleoCounter® YC-100™ be validated against appropriate reference methods and/or traditional laboratory methods at regular intervals. For installation and operation of NucleoCounter® YC-100™ refer to appropriate documentation.

ChemoMetec, NucleoCounter, NucleoCounter YC-100, NucleoCassette and NucleoView are trademarks and registered trademarks of ChemoMetec A/S.

Copyright © 2004 ChemoMetec A/S, all rights reserved.

Bezugsquelle:

IUL Instruments GmbH
Königswinterer Str. 399
53639 Königswinter

Tel: 02223-9192-0
Fax: 02223-9192-48
Mail: info@iul-instruments.de
Web: www.iul-instruments.de

ChemoMetec A/S
Gydevang 43
DK-3450 Allerød
Denmark

Phone: (+45) 48 13 10 20
Fax: (+45) 48 12 10 21
Mail: info@nucleocounter.com
Web: www.chemometec.com



chemometec