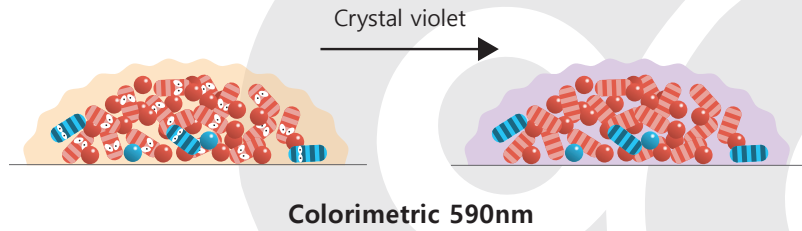


FOR RESEARCH USE ONLY!

Quanti-Micro™ Biofilm Biomass Formation Assay Kit (Colorimetric)

(QB-F100, 96 tests, Store at RT)

제품 원리

Quanti-Micro™ Biofilm Biomass Formation Assay Kit는 Crystal violet을 통해 염색된 Biofilm의 형성량을 흡광도 값 590nm에서 측정 가능합니다. 또한 Test substance의 Biofilm formation inhibitory activity를 빠르고 간단하게 측정 가능합니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	96 Tests	Storage
CV Solution	22 mL	RT
96-peg Lid	1 EA	
96-well Microplate	10 EA	

* 개봉하지 않은 제품은 빛을 차단한 상태에서 RT 보관 시 약 1년간 안정적입니다.

검사 필요 장비 및 소모품

- ▶ Colorimetric microplate reader (590 nm Filter)
- ▶ Incubator (35±2°C)
- ▶ 8 or 12 Channel micropipette
- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ Sterile physiological saline solution
- ▶ 99% Ethanol
- ▶ Mueller-Hinton Broth(MHB)

실험 과정

Biofilm Biomass Formation Assay

- * 미생물의 종과 수, 실험 목적에 따라 특별한 배양조건이 필요한 경우 사용자의 요구조건에 맞게 최적화합니다.
- * 각 Step마다 새로운 96-well Microplate를 사용합니다.

- 96-well Microplate에 Blank Well을 준비해 미생물 배양 배지 200 μl 을 분주하고, 남은 Well에 준비한 미생물 현탁액을 200 μl 씩 첨가합니다.
- 96-peg Lid를 덮고 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 배양합니다.
- 96-well Microplate 6개를 다음과 같이 준비합니다.

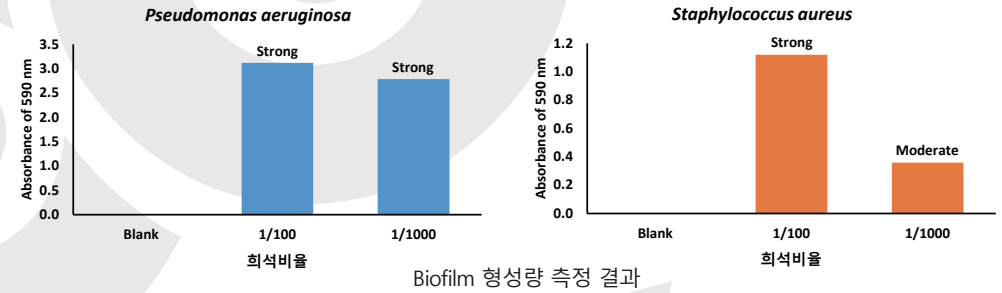
첨가물 [Plate]	μl / well	96-well Microplate (EA)
Sterile physiological saline solution [SP]	200	4
CV Solution [CV]	200	1
Ethanol [ET]	200	1

- 배양한 96-well Microplate에서 96-peg Lid를 꺼내 [SP] Plate에 96-peg Lid를 미세하게 열고 단기를 반복하며 Wash 합니다. (2번 반복_각각 다른 Plate 사용)
- 96-peg Lid를 [CV] Plate에 옮기고 상온에서 15 min 간 배양합니다.
- ④ 번과 동일하게 2번 반복해서 Wash 합니다.
- 96-peg Lid를 [ET] Plate에 옮기고 상온에서 30 min 간 배양합니다.
- Colorimetric microplate reader를 이용하여 590 nm에서 흡광도를 측정합니다.

Biofilm 형성량 결과 분석

- * 음의 값은 0으로 계산합니다.
- * 아래의 OD_c 는 Cut-off value를 의미하며 Biofilm formation inhibitory activity 결과분석의 $OD_{control}$ 과는 다릅니다.
- * $OD_c = OD_{blank}$ 값의 평균 + (반복실험 횟수 * OD_{blank} 값의 표준 편차)

- ▶ $OD \leq OD_c$ = No biofilm
- ▶ $OD_c < OD \leq 2 * OD_c$ = Weak biofilm
- ▶ $2 * OD_c < OD \leq 4 * OD_c$ = Moderate biofilm
- ▶ $4 * OD_c < OD$ = Strong biofilm



Biofilm formation inhibitory activity test

- * **Biofilm formation inhibitory activity**를 측정하기 전에 **Biofilm formation**을 위한 조건을 최적화합니다.
- * 각 Step마다 1개의 96-well Microplate를 사용합니다.
- * 미생물 현탁액을 Mueller-Hinton Broth(MHB)를 사용하여 약 10⁷CFU/ml 로 준비합니다.
- * Well 당 200 μl 씩 사용되니 사용하고자 하는 Test substance를 Mueller-Hinton Broth(MHB)에 원하는 농도별로 충분한 양만큼 녹여 준비합니다.

- 96-well Microplate 에 Blank Well을 준비해 MHB 200 μl을 분주하고, 남은 Well에 준비한 미생물 현탁액을 200 μl씩 첨가합니다.
- 96-peg Lid를 덮고 35±2°C에서 배양합니다.
- 96-well Microplate 7개를 다음과 같이 준비합니다.

첨가물 [Plate]	μl / well	96-well Microplate (EA)
Sterile physiological saline solution [SP]	200	4
Test substance solution [TS] * ④번 참고	200	1
CV Solution [CV]	200	1
Ethanol [ET]	200	1

- [TS] Plate에 Blank well과 Control well을 준비하고 이 Well을 제외한 나머지 Well에 Test substance solution을 분주합니다.
(Blank, Control well : Mueller-Hinton Broth(MHB) 200μl, 나머지 Well : Test substance solution 200μl)
- 배양한 96-well Microplate에서 96-peg Lid를 꺼내 ④ 번에 준비한 [TS] Plate에 넣고 35±2°C에서 배양합니다.
- 배양한 96-well Microplate에서 96-peg Lid를 꺼내 [SP] Plate에 96-peg Lid를 위아래로 흔들기를 반복하며 Wash 합니다. (2번 반복_각각 다른 Plate 사용)
- 96-peg Lid를 [CV] Plate에 옮기고 상온에서 15 min 간 배양합니다.
- ⑥ 번과 동일하게 2번 반복하여 Wash 합니다.
- 96-peg Lid를 [ET] Plate에 옮기고 상온에서 30 min 간 배양합니다.
- Colorimetric microplate reader를 이용하여 590 nm에서 흡광도를 측정합니다.

Biofilm formation inhibitory activity 결과분석

다음과 같은 식을 통해 Biofilm formation inhibitory activity값을 측정합니다.

$$\text{Biofilm formation inhibitory activity (\%)} = \frac{(OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}) - (OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}})}{OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}}} \times 100$$

OD_{blank} : 미생물 배양배지

OD_{control} : 미생물 현탁액

OD_{sample} : 약물 처리된 미생물 현탁액

Related products

- | | |
|---------|----------------------------------------------------------------|
| QB-W100 | Quanti-Micro™ Biofilm Viability WST-8 Assay Kit (Colorimetric) |
| QB-0100 | Quanti-Micro™ Microbial Viability Assay Kit (Colorimetric) |

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.