

# Prosedyre

## Contents

|  |    |
|--|----|
| 1. Materialer .....  | 2  |
| 2. Forberedelse av utstyret – Luminometer Hygiena Pi-102 og PC til "online" måling ..... | 3  |
| 3. Prøveuttak til estimering av bukspregning.....  | 5  |
| 3.1. Overflate pin .....   | 5  |
| 3.2. Ekstrahering .....  | 5  |
| 4. Måling av enzym aktivitet.....  | 7  |
| 4.1. Overflate pin .....   | 7  |
| 4.2. Buffer ekstrakt pin .....   | 8  |
| Blank test .....   | 8  |
| 4.3. etter 1 time fra første måling.....   | 9  |
| 4.3.1. overflatepin .....  | 9  |
| 4.3.2. buffer ekstrakt pin.....  | 10 |
| 5. Tarminnhold beskrivelse.....  | 11 |

## Materialer

Materialer som trengs for å kjøre bukspregningstest er vist i Figur1.: luminometer -1a koblet til PC, buffer ekstrakt pin (1b), overflatepin (1c), ekstraksjonsrør med 10ml ekstraksjons buffer (1d) adenosintrifosfat (ATP) løsning Hygiena Pi-102 (1e) og saks (1f). I tillegg trengs klargjorte klistrelapper som er merket med fiskenummer.

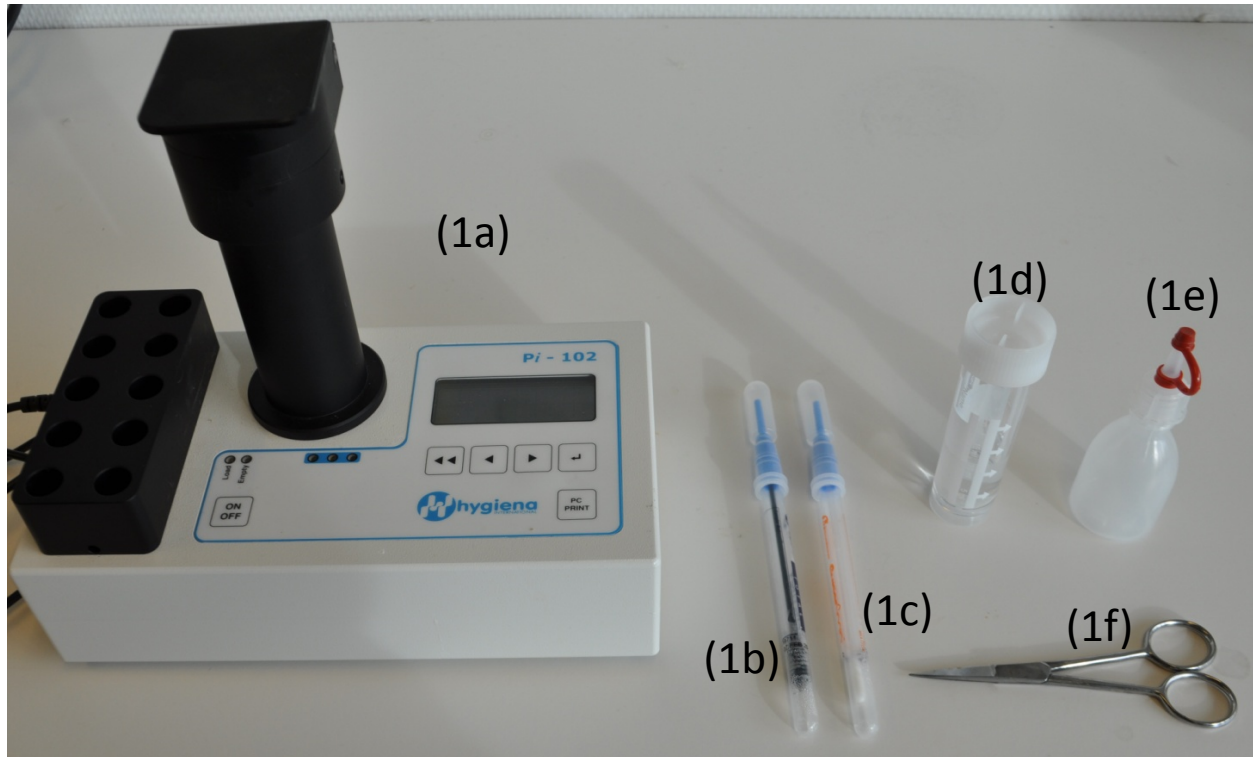


Figure1. Materialer som trengs å kjøre bukspregningstest.

Fotokamera trengs til å ta bilde av tarminnhold.

**10 fisk testes i hele prosedyren.**

## 1. Forberedelse av utstyret – Luminometer Hygiena Pi-102 og PC til "online" måling

Slår på Pi-102 utstyret ved trykk knappen "on".

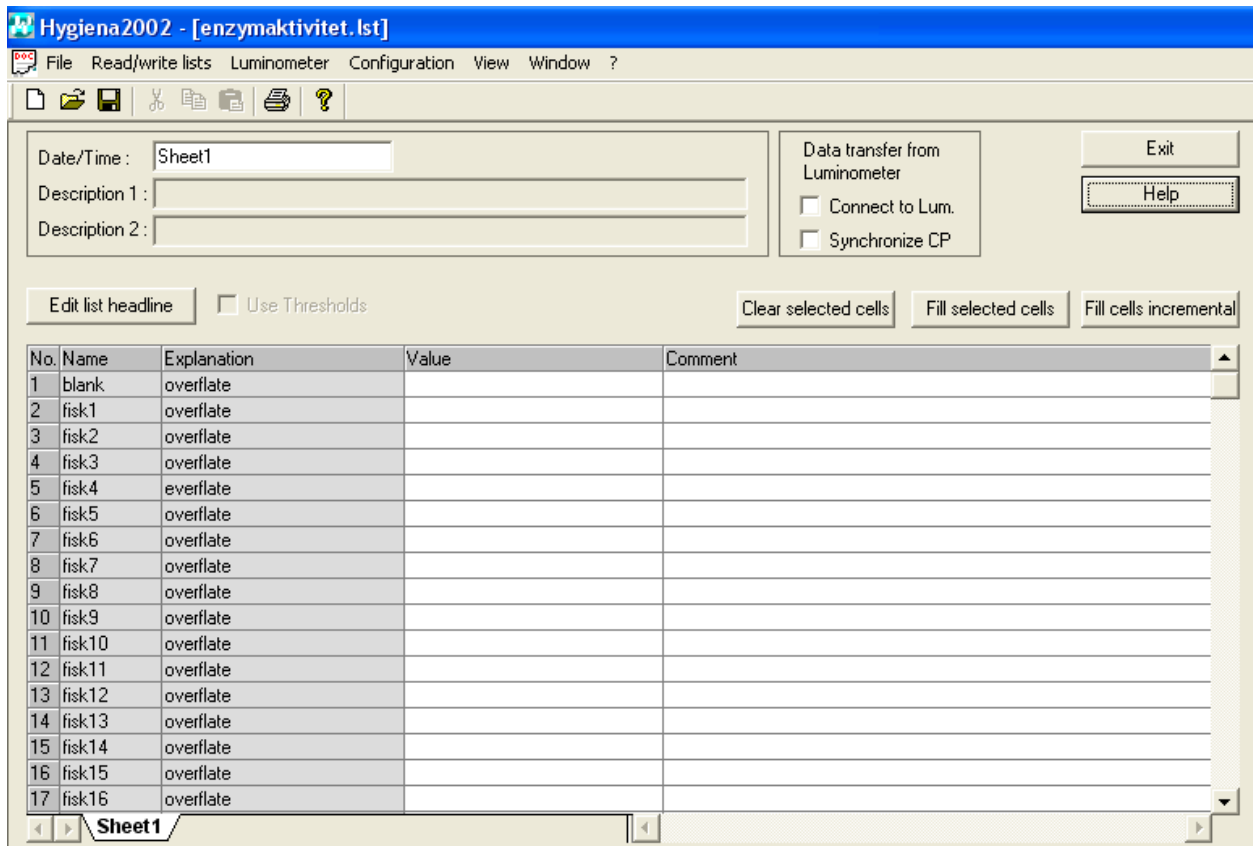
Press  $\leftarrow$  for "ok". Vent til apparatet er ferdig med å blinke "Warm up".

Press  $\leftarrow$  for "lists"

Press  $\leftarrow$  for "list 01" eller velg en annen list med

Press  $\leftarrow$  for "new"

Slå på PC og velg programma **Hygiena2002**, åpne filen "enzymaktivitet" og den bør se ut som vist i Figur 2.1



Figur2.1

Da velg du **File Save as** og skriv nytt filnavn som for eksempel: dato og fiskeart:

20.11.2011NVGSild

Trykk **Save**

Lukk filen med **File close**

Da velger du **File open** og velger den nylagrede filen

Skriv på felte Date/Time - dato, på description felte: navn på båt, fiskeområde

På samme siden til høyre **Husk å krysse av "Connect to Lum" og "Synchronize CP"**

**Nå er utstyret klar til å måle "online"**

## 2. Prøveuttak til estimering av bukspregning

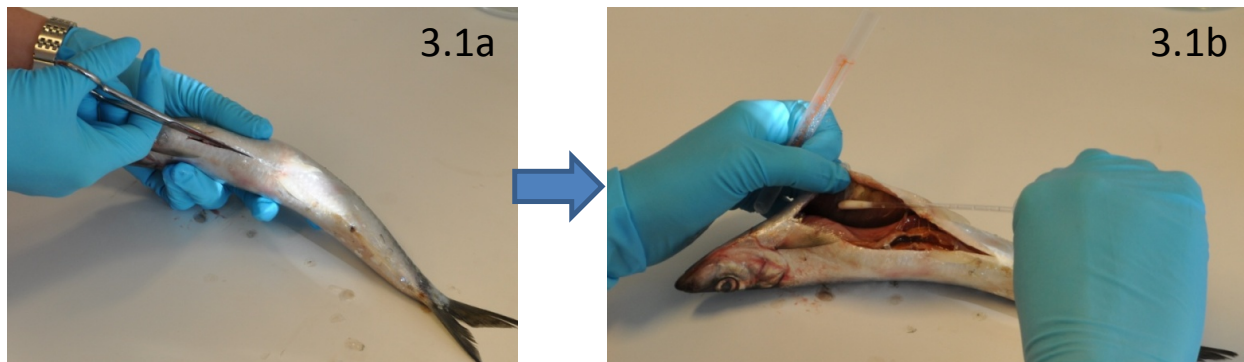
Prøve tas på to forskjellige måter:

1. med overflatepin (3.1) og
2. via ekstrahering og buffer ekstrakt pin (3.2)

Fisk (Nr1) åpnes ved bruk av saks (Figur 3.1(3.1a)).

### 2.1.Overflate pin

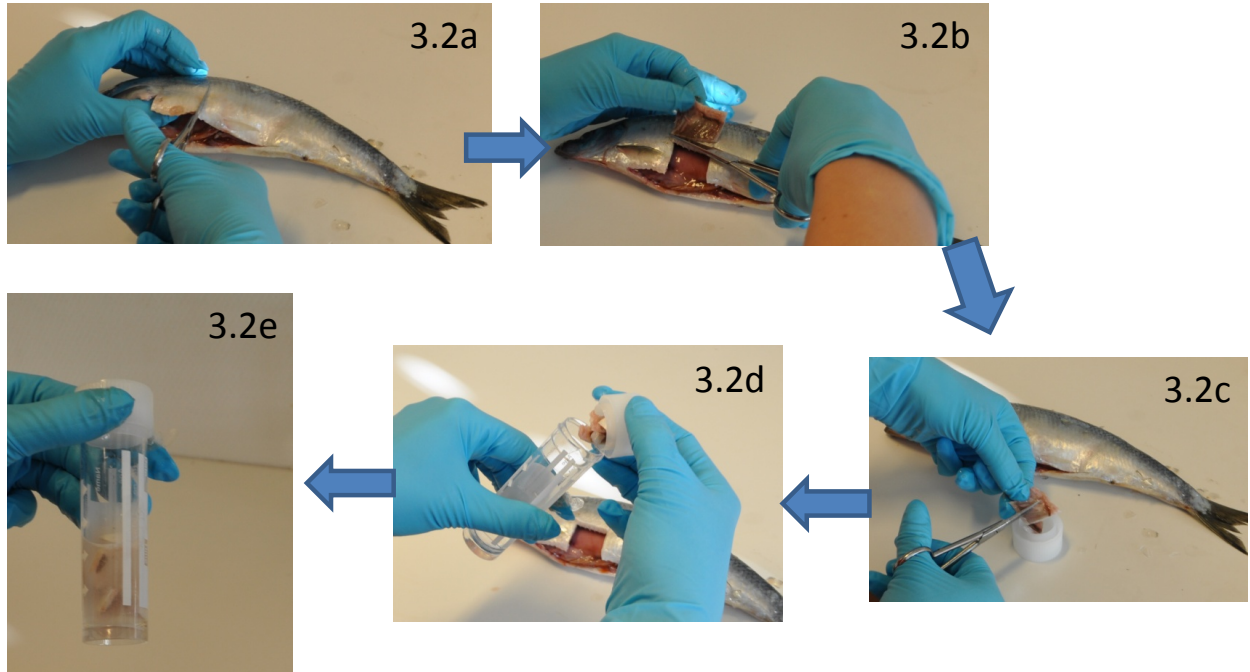
Klistrelapp med nummer av fisk limes på overflatepinnen (oransje). Ta prøve ved å stryke med overflatepin, (3.1b) på fisk i bukken som vist i Figur 3.1.



Figur 3.1. Prøveuttaket med overflatepin

### 2.2.Ekstrahering

Tilsett ca 10ml buffer i ekstraheringsrør. Ekstrakt lages ved å kutte av en bit fra silda slik som vist i bilde 3.2a og 3.2b. Sildebiten legges på toppen av ekstraheringsrøret og skjæres i mindre biter med saks (bilde 3.2c), og overføres til ekstraheringsrøret ved å sette på toppen på røret (bilde 3.2d). Ha igjen toppen og rist røret (3-5 sekunder) for å blande sildebitene med buffer (3.2e). Klistrelapp med fiskenummer limes på ekstraheringsrøret.



Figur- 3.2 Prøveuttaket med ekstrahering og buffer ekstrakt pin

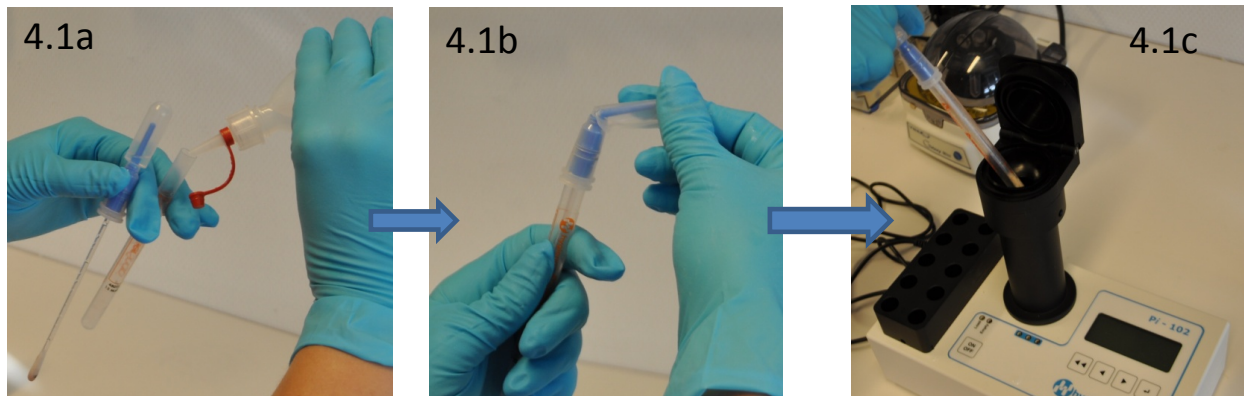
**Gjenta alle disse trinnene på 10 fisk??**

### 3. Måling av enzym aktivitet

#### 3.1.Overflatepin

##### Blank test

- Ta en ny overflatepin, klistre på lapp som viser "blank"
- Ta av toppen på pinen og tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.1a (Figur 4.1). Sett på toppen.
- Knekk hodet på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB!du bør høre et knekk og klemme ut væsken.
- røret ristes og settes i luminometeret (4.1c i Figur 4.1)
- trykk **enter** på **Pi-102** to ganger for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- måleverdien dukker opp under "**value**" i programmet på r på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**blank**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time
- Fortsett med fiskeprøvene



Figur 4.1 Måling av enzym aktivitet på overflate pin

##### Fiskeprøvene:

- Ta overflate pin med klistrelapp **fisk1**
- Ta av toppen på pinen og tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.1a (Figur 4.1). Sett på toppen.
- Knekk hode på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB!du bør høre et knekk og klemme ut væsken.
- røret ristes og settes i luminometeret (4.1c i Figur 4.1)
- trykk **enter** på **Pi-102** to ganger for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.

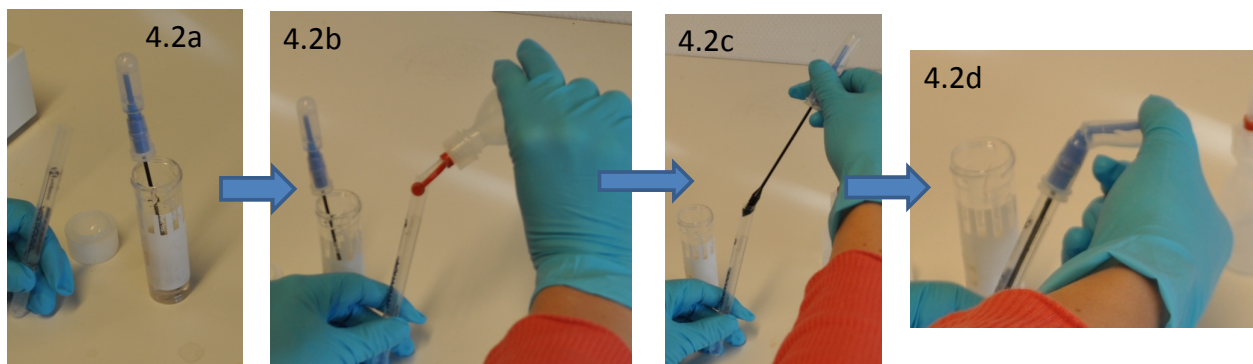
- måleverdien dukker opp på PI-102 skjermen og under "**value**" i programmet på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**blank**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time,
- Fortsett med de 9 andre overflatepinene som er merket med fisk 2 til 10.

Når du er ferdig med overflatepinnene skal du befinne deg i linjen hvor det i spalten "**explanation**" står "**ekstrakt**". Da er du klar til å starte å jobbe med bufferekstrakt-pin.

### 3.2. Bufferekstrakt-pin

#### Blank test

- Ta en ny bufferekstrakt-pin, klistre på lapp som viser "blank"
- Ta av toppen på pinen og tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.2b (Figur 4.2). Sett på toppen.
- Knekk hodet på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB! du bør høre et knekk og klemme ut væsken. røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under nr 12 i programmet på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**blank**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- Sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time,
- Fortsett med fiskeprøvene



Figur 4.2 Måling av enzymaktivitet på buffer ekstrakt pin



## Fiskeprøvene:

- Toppen i bufferekstrakt-pinen dyppes i **ekstraheringsrør** med fiskeprøve (Figur 4.2 bilde 4.2a)
- Tilsett 2 dråper ATP-løsning i testrøret som vist i figur 4.2b (Figur 4.2).
- Pin toppen fra ekstraheringsrøret settes tilbake på testrøret (4.2c i Figur 4.2) .
- Knekk hodet på testrøret som vist i 4.1b (Figur 4.1) NB!du bør høre et knekk og klemme ut væsken. røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp på Pi-102 skjermen og under "**value**" i programmet på **PC**, i spalten "**name**" skal det stå "**fisk1**", i spalten "comments" skal tiden for prøvemålingen skrives.
- sett pin på stativet, den skal testes igjen om ca 1time,
- Fortsett med de 9 andre overflatepinene som er merket med fisk 2 til 10.
- Når du er ferdig med første runde av målinger, sjekk tiden på den første prøven som ble testet (blank av overflatepin). Hvis det har gått 1 time fra testen ble kjørt, så kan du starte med andre runde av målinger. Hvis ikke, så venter du til det har gått 1 time fra første testen ble kjørt.

### 3.3. 1 time etter første måling

#### 3.3.1. Overflatepin

- Ta overflatepin merket med "**blank**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under nr 23 i programmet på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
- ta overflatepin merket med "**fisk1**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under "**value**" i programmet på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
- Fortsett med samme måleprosedyre på de 9 andre overflatepinene som er merket med fisk2 til fisk10.
- Da du er ferdig med overflatepinnene når du befinner deg på en linje hvor det i spalten "**explanation**" står "**ekstrakt**". Da kan du starte arbeidet med bufferekstrakt-pin.

### 3.3.2. Bufferekstrakt pin

- Ta bufferekstrakt-pin merket med "**blank**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under nr 34 i programmet på på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
  
- Ta bufferekstrakt-pin merket med "**fisk1**"
- Åpne testrøret og tilsett 2 dråper ATP-løsning til røret. Lukk igjen røret.
- Røret ristes og settes i luminometer
- Trykk **enter** på **Pi-102 to ganger** for å starte måling. Melding der det står "Measuring" dukker opp.
- Måleverdien dukker opp under "**value**" i programmet på på **PC**, i spalten "**comments**" skal tiden for prøvemålingen skrives
- Fortsett med samme måleprosedyre på de 9 andre bufferekstrakt-pinene som er merket med **fisk2** til **fisk10**.

Når alle målingene er ferdig lagres data filen ved trykk **File, Save**.

#### 4. Tarminnhold beskrivelse

Tar ... fisk. Tarminnhold skal tas ved press av fiskens mage. Bilde av tarminnhold tas. I tillegg beskrives tarminnhold skriftlig i data Ark 1.

##### Ark 1. Tarminnhold

| Fisk nr. | Farge (rå, svart, gull, etc) | Konsistens (sandpapir, glatt, etc) | Mengde (???) | Annen viktig info |
|----------|------------------------------|------------------------------------|--------------|-------------------|
|          |                              |                                    |              |                   |
|          |                              |                                    |              |                   |
|          |                              |                                    |              |                   |