

支原体快速检测试剂盒（PCR 法）

基本信息

货号	规格	储存条件	运输条件	有效期
RC0198	50T	-20°C	冰袋	12 个月

产品简介

支原体污染会对细胞各个方面都造成不良影响，已经成为细胞培养中高度重视的问题，因此，定期进行支原体污染检测是十分必要的。本支原体检测试剂盒是采用 PCR 方法，特异性的检测各种培养细胞生物材料（如细胞培养物、实验动物分泌物、动物血清等）中支原体的污染。试剂盒使用的混合引物是针对支原体 16s rRNA 序列的保守区域设计的特异性引物，可直接使用细胞培养上清作为 PCR 模板，特异性扩增支原体 DNA，搭配配套的 Mycoplasma PCR Mix (2×) 一小时内即可完成，本试剂盒检测灵敏度高，可检测低至 20 个拷贝的支原体。

试剂盒组成

Component	RC0198
Mycoplasma PCR Mix (2×)	1 mL
Mycoplasma Primer Mix	200 µL
Positive Control	50 µL
Mycoplasma Free Water	1 mL

操作步骤

- 1、样品准备：取适量待检细胞培养上清于洁净的 PCR 管中，利用 PCR 仪 95°C 热处理 5 min 后作为模板。血清样本可利用 Mycoplasma Free Water 稀释后，取适量样本于洁净的 PCR 管中，利用 PCR 仪 95°C 热处理 5 min 后作为模板；
- 2、PCR 体系配制：每次实验需设置阴性对照（将 1 µL 待检样品换成等量的 Mycoplasma Free

Water) 与阳性对照 (在 1 μL 待检样品中加入 0.5 μL Positive Control 后一起作为 Template) , 实验时戴一次性口罩与手套, 谨慎操作, 防止操作不当引入外源支原体污染;

Component	Volume
Template	1 μL
Mycoplasma Primer Mix	2 μL
Mycoplasma PCR Mix (2 $\times$)	10 μL
Mycoplasma Free Water	To 20 μL

3、PCR 程序设置:

Step	Temperature	Duration	Cycles
Initial Denaturation	98 $^{\circ}\text{C}$	2 min	1
Denaturation	98 $^{\circ}\text{C}$	20 s	35
Annealing	56 $^{\circ}\text{C}$	25 s	
Extension	72 $^{\circ}\text{C}$	10 s	
Final extension	72 $^{\circ}\text{C}$	5min	1
Hold	4-16 $^{\circ}\text{C}$	Forever	

4、凝胶电泳: 取 10 μL PCR 产物, 使用 1%琼脂糖凝胶进行电泳检测;

5、结果分析: 每次实验通过与阴性对照、阳性对照检测结果比较确认样品支原体污染情况, 阳性条带大小 500 bp 左右。如阴性对照检测结果中有条带很有可能是 PCR 体系中出现污染, 建议重新实验确认结果。如有必要, 也可对 PCR 产物进行常规测序, 以确定具体的支原体种属。

注意事项

- 1、本试剂盒可以检测 *M. orale*, *M. arginini*, *M. bovis*, *M. fermentans*, *M. gallisepticum*, *M. hominis*, *M. pirum*, *Ureaplasma spp*, *M. hyorhinae*, *M. pneumoniae*, *A. laidlawii* 等至少 11 种以上支原体污染;
- 2、所有试剂在使用前于冰上彻底解冻、混匀, 使用完毕后于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存;
- 3、每次实验必须设置阴性对照、阳性对照, 实验组建议设置样品模板梯度;
- 4、操作时必须佩戴口罩, 严格按照 PCR 操作标准, 防止引入外源污染影响实验结果;
- 5、为了确保细胞实验的可靠性及稳定性, 建议定期进行支原体污染检测;
- 6、为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。