

快速支原体检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装规格
NW3229-50T	快速支原体检测试剂盒	50T

产品简介:

快速支原体检测试剂盒主要用于检测细胞培养上清或别的液体样品（如血清）中是否含有支原体污染，该试剂盒仅用于基础科研。

本试剂盒可以检测：(1) M.Hyorhinis、(2) M.Fermentans、(3) M.Arginini、(4) M. hominis、(5) M. orale、(6) M. salivarium、(7) M.pirum、(8) AcholeplasmaLaidlawii、(9)M. agalactiae、(10)M.bovis、(11)M. buccale、(12)M. arthritidis、(13)M. pulmonis 等几乎所有常见的污染细胞的支原体（注：M.为 Mycoplasma 的缩写）。

以上 13 种支原体约占细胞支原体污染的 99%以上，本试剂盒产品全部可以检测。绝大多数支原体污染集中于前 8 种。注意：本试剂盒无法检测 UreaplasmaUrealy-ticum 支原体！该支原体在支原体污染种极其罕见。

保存条件:

-20°C保存，1 年有效。

产品组成:

成分名称	体积
溶液 I	1150 μL
溶液 II	50 μL
溶液 III：指示剂	50 μL
阳性支原体 DNA	50 μL
矿物油	1500 μL

与 PCR 法检测支原体比较，本试剂盒产品优势显著：

比较内容	支原体 PCR 法	快速支原体检测试剂盒
操作时间	3 h	1 h
是否需要样品处理	样品需预处理，DNA 提取	无需样品处理，直接使用上清
灵敏度	灵敏度低	较 PCR 法 提高 1000 倍
是否需要电泳	需要电泳及染色	不需电泳，目测结果

产品使用：**一、待测样品的准备**

为了准确判断细胞是否有支原体的污染，待测的细胞培养液样品最好来源于至少培养三天且汇合度在 70%~90% 左右的细胞培养上清（贴壁细胞），无需离心。悬浮培养的细胞也需要在换液传代后，至少让细胞生长 3 天再取培养液进行检测，也无需离心。哺乳动物细胞的存在不会影响检测结果。

注：收集的待测细胞培养液样品如果不立即检测，请放于-20℃或-80℃冰箱保存，不得放于室温或 4℃冰箱。样品在-20℃至少可以保存一个月，在-80℃可以长期保存。此外，为了节约检测成本，可以将不同时间收集的样品放于-20℃或-80℃冰箱保存，而后一起检测。

二、反应体系的配制

表 1 恒温反应体系的配制

组分	单个样品用量 (μL)	样品总数	N 个样品总用量 (μL)
溶液 I	21.5	N	21.5×N×1.06
溶液 II	1	N	1×N×1.06
溶液 III	0.5	N	0.5×N×1.06

1. 溶液 I、溶液 III 从-20℃冰箱中取出，待其融化后（可在 37℃水浴内放置 5~10 min 以帮助融化），从-20℃冰箱中取出溶液 II 置于冰上。吹吸均匀后，按表 1 比例，混合溶液 I、溶液 II、溶液 III。如有多个样品，为了防止移液误差，建议溶液 I、II、III 用量乘以系数 1.06，保证每个反应管中的反应液足量。从配液开始的所有步骤，均在冰上操作。

举例：如果待测样品为 3 个（加上 1 个阴性和 1 个阳性对照），则样品总数为 5 个。溶液 I 的总体积为 $21.5 \times 5 \times 1.06 = 113.95 \mu\text{L}$ ，溶液 II 的总体积为 $1 \times 5 \times 1.06 = 5.3 \mu\text{L}$ ，

溶液Ⅲ的总体积为 $0.5 \times 5 \times 1.06 = 2.65 \mu\text{L}$ ，将溶液 I、溶液 II、溶液 III 混合均匀。

注：溶液 II 必须一直在 -20°C 冰箱中保存并在操作时置于冰上。溶液 II 即使在 -20°C 条件下仍为液态，不需置于室温。

2. 将上述配制好的反应体系吹打均匀后按每管 $23 \mu\text{L}$ 分装到 0.2 mL 的 PCR 管中。尽量保证每管的反应液体积一样。PCR 管应该使用透明度良好的薄壁 PCR 管。
3. 往测试管 (Test) 中加入 $2 \mu\text{L}$ 待测细胞培养液；往阳性对照管 (Positive) 中加入 $2 \mu\text{L}$ 阳性支原体 DNA；往阴性对照管 (Negative) 中加入 $2 \mu\text{L}$ 灭菌水；反应总体积为 $25 \mu\text{L}$ 。

注 1：装有阳性支原体 DNA 的螺口管开盖之前，需要短暂离心。

注 2：进行反应体系配制的房间，与进行样品前处理、加阳性对照 DNA、样品 DNA 的房间最好分开。

三、 反应

PCR 仪设置程序： 61°C ，60 min； 10°C ，forever；热盖温度， 100°C 。

注：若实验室反应场所没有 PCR 仪，可用水浴锅代替，水浴锅显示温度与实际温度的温差不超过 0.5°C ，另须往每个反应管内加入 $25 \mu\text{L}$ 矿物油，以防止水份挥发，然后盖上盖子，将反应管插入带孔的漂板内，放入已经升温到 61°C 的水浴内，准确反应 60 min。

四、 结果判断

61°C 反应 60 min 后，立刻取出反应管，放于室温。以一张白纸或白色泡沫盒为背景，通过反应管溶液颜色的变化，即可判断检测结果。如果溶液为蓝绿色，则说明有支原体污染；如果为紫红色，则说明没有支原体污染。

注：在 61°C 反应的时间必须准确计时，最多不得超过 5 min，以免出现假阳性。必须在反应后 2 h 内进行结果判断，避免室温下扩增反应进行，影响结果判别。



Negative reaction



Positive reaction

注意事项：

1. 必须确保使用的移液枪本身没有残留的支原体，尽量用新购移液器、新开封的枪头操作；整个操作过程，佩戴口罩，不要开口说话。由于本试剂盒非常灵敏，移液枪如吸附有，或者人为带入支原体均有可能造成假阳性。
2. 最好使用带滤芯的吸头吸取溶液和阳性支原体等。如果没有带滤芯的吸头，至少应该使用新开封的吸头。
3. 检测过程中，用过的各类吸头、离心管务必小心处理，应装入含有半瓶水的带盖的、可密封的垃圾瓶内。反应后的 PCR 管，不要开盖，用过后将其用自封袋密闭，扔到远离细胞房的独立垃圾桶内。
4. 如果细胞被支原体污染，可以选购支原体去除试剂（货号：NW3207） 尽早去除。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！