

支原体检测试剂盒 (PCR 法)

Mycoplasma Detection Kit (PCR)

使用说明书

◆货号及规格:

目录编号	包装规格
C605-01	50T

◆产品组成:

Component Number	Components	C605-01
C605-1	Mycoplasma PCR Mix(2×)	1mL
C605-2	Mycoplasma Primer Mix	100μL
C605-3	Positive Control	50μL
C605-4	Mycoplasma Free Water	1mL

◆**储运温度:** 冰袋运输; -20℃保存, 有效期 12 个月。

◆**制品说明:** 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。

◆**产品特点:** 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液作为 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。

◆操作步骤:

- 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℃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℃ 热处理 5 min 后作为模板。
- PCR 体系配制:** 每次实验需设置阴性对照(将 1μL 待检样品换成等量的 Mycoplasma Free Water)与阳性对照(在 1μL 待检样品中加入 0.5μL 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 μ L
Mycoplasma Primer Mix	2 μ L
Mycoplasma PCR Mix(2 \times)	10 μ L
Mycoplasma Free Water	To 20 μ L

3. PCR 程序设置:

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial Denaturation	98 $^{\circ}$ C	2 min	1
Denaturation	98 $^{\circ}$ C	20 s	30
Annealing	56 $^{\circ}$ C	25 s	
Extension	72 $^{\circ}$ C	10 s	
Final extension	72 $^{\circ}$ C	5 min	1
Hold	4-16 $^{\circ}$ C	Forever	

- 凝胶电泳:** 取 10 μ L PCR 产物, 使用 1%琼脂糖凝胶进行电泳检测。
- 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:

- 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. hyorhinitis*, *M. pneumoniae*, *A. laidlawii* 等至少 11 种以上支原体污染。
- 所有试剂在使用前于冰上彻底解冻、混匀, 使用完毕后于-20 $^{\circ}$ C保存。
- 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。
- 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。
- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 本制品仅供科研使用, 严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====



扫码关注我们