

支原体检测试剂盒(化学发光法)

Mycoplasma Detection Kit (Chemiluminescence)

使用说明书

◆货号及规格:

目录编号	包装规格
C606-01	20T

◆产品组成:

Component Number	Components	C606-01
C606-1	支原体检测试剂 A	1mL
C606-2	支原体检测试剂 B	1mL

◆**储运温度:** 冰袋运输; -20°C保存, 支原体检测试剂 A 需避光保存, 有效期 12 个月。

◆**制品说明:** 本支原体检测试剂盒是利用支原体中特有酶的活性设计而成, 该酶可将支原体检测试剂中特有的底物分解同时将 ADP 转换成 ATP, 荧光素酶在 ATP 存在下催化荧光素氧化发出生物荧光, 可通过化学发光仪(Luminometer)进行测定, 以反应待检样品是否存在支原体污染。整个检测过程操作简单, 只需两个步骤, 耗时约 15 min。

◆**产品特点:** 该方法灵敏度高, 检测的是真正具有生物活性的支原体, 所以检测结果比 PCR 方法更准确。

◆操作步骤:

1. 取适量(1mL 足够)培养 3-6 天的细胞上清, 400g 离心 3min, 以去除沉淀少量漂浮细胞或碎片, 取上清立即检测, 或者 4°C保存在一周内检测, 或者-80°C保存半年内检测。
2. 将所有检测试剂和检测样品均平衡至室温, 最适宜的温度为 2-25°C。
3. 在 96 孔检测板(非透明板, 建议用专用 96 孔白板)中加入 50μL 待检测样品、阴性对照(如无菌水或 PBS)。
4. 加入 50μL 支原体检测试剂 A, 轻柔混匀不要产生气泡, 室温(20-25°C)避光放置 5 min。然后用具有检测化学发光的酶标仪进行化学发光检测, 计读数为 A。

注: 请根据仪器灵敏度适当调整相应的参数, 每个孔的检测时间一般为 0.25-1s。

5. 加入 50 μ L 的支原体检测试剂 B，轻柔混匀不要产生气泡，室温(20-25 $^{\circ}$ C)避光放置 10min。然后用具有检测化学发光的酶标仪进行化学发光检测，计读数为 B。

注：请严格按照加入支原体检测试剂 B 后 10 min 进行检测，不应提前或延后，否则会影响结果判断。

6. 计算比值(Ratio)=读值 B/读值 A。

A. 如果 B/A>1.1，说明细胞培养物中存在支原体污染。

B. 如果 B/A<0.9，说明细胞培养物中没有支原体污染。

C. 如果 B/A 比值在 0.9-1.1 之间，建议继续培养细胞 24-48h 后，再次检测确定是否存在支原体污染。如果 B/A 比值仍在 0.9-1.1 之间，则该细胞培养物没有支原体污染，为支原体阴性。

◆注意事项：

1. 支原体检测试剂 A 中含有荧光素酶，反复冻融会逐渐使其失活，建议第一次解冻后应适当分装保存，分装容器需洁净无污染。

2. 检测时强烈建议使用白色或者黑色不透光 96 孔板，使用普通透明 96 孔板会使得相邻检测孔出现干扰。

3. 人体皮肤表面含有丰富的 ATP，检测时请带好实验手套、口罩，其他耗材也应洁净、无污染，防止外源引入 ATP 污染。

4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

5. 本制品仅供科研使用，严禁用于临床诊断和药物等用途。

=====

