

## 支原体检测试剂盒说明书

货号: ZQ505

规格: 0.5mL/50T

## 【产品描述】

支原体 (mycoplasma): 支原体是一种大小仅为 0.2~0.3  $\mu\text{m}$ , 无细胞壁, 可透过一般过滤膜 (0.22-0.45  $\mu\text{m}$ ) 的原核生物, 在细胞培养过程中, 支原体感染发生率达到 63%, 因而细胞培养过程中被支原体污染是一个世界性的难题。当细胞 (特别是传代细胞) 被支原体污染后, 细胞内的 DNA、RNA 及蛋白表达发生改变, 而细胞的生长率一般并未发生显著的影响, 因而细胞被支原体污染一般难以察觉。因此细胞都需要定期 (如每个月) 进行支原体污染的检测。检测支原体方法包括肉汤或琼脂培养、ELISA、直接或间接的荧光染色、PCR 法等, 其中, PCR 法灵敏度最高。

本试剂盒能检测支原体种类包括 *M. Arginini*, *A. laidlawii*, *M. Orale*, *M. Hyorhinis*, *M. Fermentans*, 等多种常见支原体, 在细胞污染中这些种支原体占到 99% 以上的比例。本产品包含 Taq DNA Polymerase、延伸促进因子、dNTP 以及优化的缓冲体系, 扩增速度可达 15sec/kb, 适用于快速 PCR 反应, 1kb 以内的极限扩增速度可达 1sec/kb, 大幅节省 PCR 反应时间。预先配制的 Myco-PCR-Mix 用于 PCR 反应时只需加入待检测细胞上清液即可进行扩增, 减少了移液操作, 提高了检测通量和结果的重现性。本品扩增性能优, 保存稳定性高, 适用于 5kb 以内以基因组为模板的 PCR 扩增以及 10kb 以内以质粒和入 DNA 为模板的 PCR 扩增。扩增体系中加入的保护剂使得 Myco-PCR-Mix 反复冻融后仍可保持稳定活性。本品含有电泳缓冲液和绿色染料, 可在反应结束后直接进行电泳, 使用方便。

## 【产品组成】

| 组份               | Cat: ZQ505        | 储存条件  |
|------------------|-------------------|---|
| Myco-PCR-Mix     | 500 $\mu\text{l}$ | 4 $^{\circ}\text{C}$ / -20 $^{\circ}\text{C}$ |
| Positive control | 100 $\mu\text{l}$ | 4 $^{\circ}\text{C}$                          |
| Negative control | 100 $\mu\text{l}$ | 4 $^{\circ}\text{C}$                          |

## 【操作步骤】

|       |                     |     |
|-------|---------------------|-----|
| 反应体系: | <b>Myco-PCR-Mix</b> | 9ul |
|       | <b>待检测细胞上清液</b>     | 1ul |

样品 1000rpm 离心 1 分钟, 取待测细胞上清液 95°C 热裂解 10min, 按照以上反应比例, 在 PCR 管中将裂解后的待检测样品上清液 1ul 加入到 9ul Myco-PCR-Mix 中, 每次检测请用 Positive control 模版作为阳性对照, 用 Negative control 模版作为阴性对照。PCR 反应程序为: 95°C 5min (预变性), (95°C 15s, 56°C 15s, 72°C 5s) 35 个循环, 72°C 5min (彻底延伸)。PCR 产物跑 1.5% 琼脂胶, 用 200bp-l DNA ladder 显示片段大小。待检测样品中如果出现与阳性对照大小一致 (300bp) 的条带, 说明样品被支原体感染。

## 【储存温度/时间】

本产品如果长期保存, 请在-20°C 保存, 建议 1 年内使用完毕, 经常使用时请保持在 4°C。避免反复冻融。

中乔新舟