



艾迪基因
EDITGENE

加速基因编辑进程,造福人类健康

www.edgene.cn



支原体检测试剂盒

Mycoplasma Detection Kit (PCR)

产品说明书



中国总部: 020-3223-8856

美国办事处: 833-2263234

总部地址: 广东省广州市黄埔区科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器D栋5F





目录

▶ 产品信息	3
▶ 产品概述	3
▶ 产品组分	3
▶ 运输与保存方式	4
▶ 实验所需其他材料	4
▶ 实验流程介绍	4
1. 流程示意图	4
2. 操作区域	5
3. 样本制备	5
4. PCR 反应	5
5. 凝胶电泳	6
▶ 常见问题	6
▶ 注意事项	7





支原体检测试剂盒说明书

产品信息

货号	规格
EDMD01-01	50T
EDMD01-02	100T

产品概述

支原体 (Mycoplasma) 是一类最小的、最简单的原核生物, 支原体感染改变细胞的 DNA、RNA 及蛋白表达, 导致细胞生长速率缓慢、细胞产生病变的形态改变等, 严重影响实验结果。针对支原体的检测预防, 是细胞实验过程中不可缺少的步骤, 本试剂盒原理为通过特异性引物对支原体基因保守区域进行扩增, PCR 扩增后通过电泳分析即可确定是否有支原体污染。该实验具有灵敏度高、特异性强、检测快速的特点。

产品组分

试剂盒成分	储存条件	50T	100T
MycoD Primer MIX	-20℃	100 μL	200 μL
MycoD Control template	-20℃	100 μL	200 μL
MycoD Master Mix	-20℃	750 μL	1.5 mL
MycoD Proteinase K Solution	-20℃	50 μL	100 μL





► 运输与保存方式

冰袋运输；-20℃保存，12 个月有效期。

► 实验所需其他材料

- (a) PCR 扩增仪；
- (b) 琼脂糖凝胶电泳装置；
- (c) 微量离心机；
- (d) 无菌 PCR 管、离心管、枪头及移液枪；
- (e) 琼脂糖凝胶、电泳缓冲液、DNA 分子量标准、电泳染料；
- (f) 样品：用于检测支原体污染的样品是细胞接种后至少培养了 48h 的细胞悬液，或者是培养基、血清。

► 实验流程介绍

取样待测细胞用，无菌条件下，使用 MycoD Proteinase K Solution 处理待测细胞得到待测样品。将得到的待测样品与阳性标品、阴性标品一同进行 PCR 反应。PCR 反应结束后，进行琼脂糖凝胶电泳确认扩增有无条带及条带亮度。在阳性标品有条带且明显、阴性标品无条带的情况下根据检测样品的有无条带及条带亮度即可检测是否感染支原体及感染程度。

1. 流程示意图

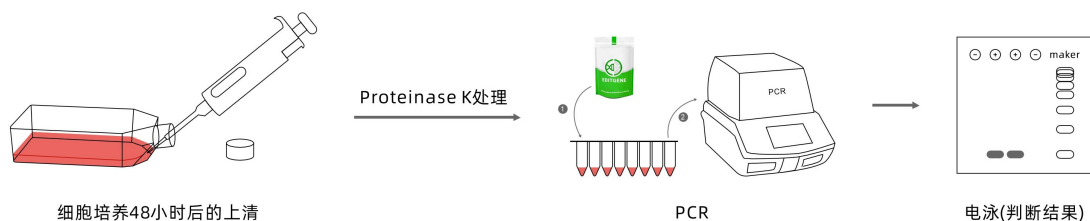


图 1 支原体检测流程示意图





2. 操作区域

本试剂盒中使用的 PCR 反应是一种非常灵敏的扩增方法。为避免 PCR 产物和对照模板的交叉污染，建议通过划分不同工作区域进行实验。区域划分可参照图 2 进行。

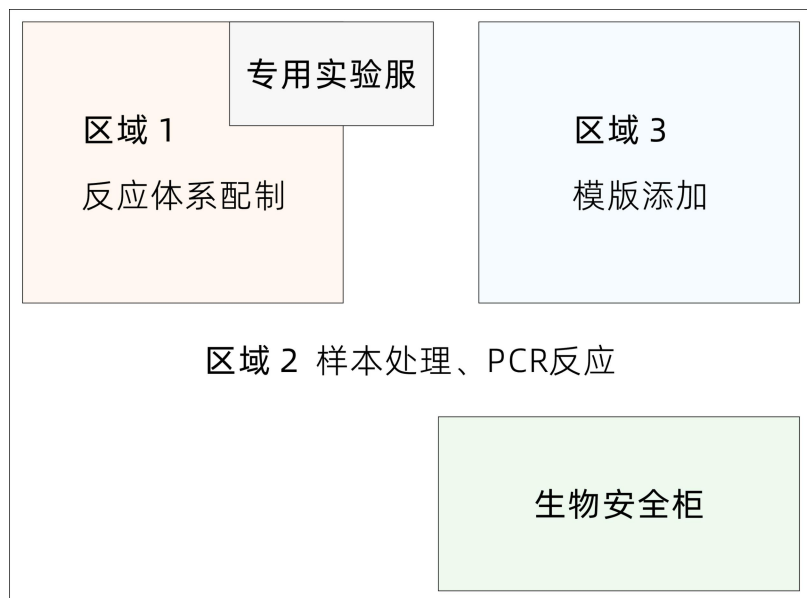


图 2 实验区域划分参考

注：根据实验环境决定是否设置超净工作台

3. 样本制备

使用接种后连续培养 48h 以上的培养细胞，并按照下述方法制备支原体检测用的样品。

- 1) 传代细胞时，取样 $\geq 1 \times 10^5$ 个细胞的细胞悬液；
- 2) 800 g 离心 5 min 得到待测细胞样品；
- 3) 向待测样品中加入 100 μ l MycoD Proteinase K Solution；
- 4) 在 PCR 仪中，55°C 孵育 15 min；
- 5) 98°C 孵育 2 min 使酶失活，检测样品制备完成。

4. PCR 反应

- 1) 将支原体检测试剂盒从-20°C冰箱取出，放置在冰盒中融解；
- 2) 按照表 1 配制反应体系；





组分	体积
MycoD Master Mix	15 μ L
MycoD Primer Mix	2 μ L
ddH ₂ O	13 μ L

表 1.PCR 反应体系配制

- 3) 向反应体系中加入 2 μ L 模版;
- 4) 设置反应程序, 进行 PCR 反应;

步骤	温度	反应时间
预变性	95 $^{\circ}$ C	3 min
35 个循环	95 $^{\circ}$ C	15 sec
	55 $^{\circ}$ C	15 sec
	72 $^{\circ}$ C	2 min
	72 $^{\circ}$ C	5 min
保持	4 $^{\circ}$ C	

表 2.PCR 反应程序设置

- 5) 完成反应, 得到 PCR 产物。

5. 凝胶电泳

- 1) 配制 1%的琼脂糖凝胶;
- 2) 将 PCR 产物点样 3 μ L 至凝胶上;
- 3) 120 V 电泳 30 min;
- 4) 结果判断: 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。

► 常见问题

1. 阴性对照出现条带

更换新启用的阴性标品进行复核, 注意点样时更换枪头、点样优先阴性及阴性标品存放, 避免样品间的交叉污染。





2. 样本反复检测结果不符

PCR 法检测支原体较为灵敏, 应注意样本间的交叉污染, 取样时, 在无菌条件下单独取样每个样品, 进行样本处理、PCR 反应后, 待样本冷却再进行下一步操作, 避免气溶胶污染样本;

3. 是否可用于试剂的支原体检测

对于常用的细胞培养试剂, 如培养基、血清等, 本试剂盒可检测支原体, 检测时无需进行样本制备, 直接进行 PCR 反应后点样即可; 对于 DMSO、乙醇等有机溶剂, 本试剂盒无法检测。

► 注意事项

- (1) 本产品仅供实验室作为科研目的使用, 请严格遵守相关法律法规和伦理要求, 否则产生一切后果与本公司无关。
- (2) 请按要求运输、存储及使用试剂, 非必要请勿反复冻融, 因未按要求保存、操作造成的实验失败, 本公司概不负责。

