

MycoTest Kit 说明书

(支原体检测试剂盒)

产品简介:

MycoTest Kit 是利用降落聚合酶链式反应技术 (TD-PCR) 对支原体 16S rRNA 基因高度保守区域特异性片段进行扩增检测。该方法灵敏度高, 特异性强, 可用于各种生物材料 (如细胞培养基、实验动物分泌物、动物血清等) 支原体感染的检测。

MycoTest Kit 中所含的 Mix 能特异性扩增多种支原体 16S rRNA 基因片段, 可以达到一次性检测多种支原体的目的。本试剂盒根据欧洲药典中对于生物制药生产过程中 (参考资料: European pharmacopoeia 7.0, 2.6.7.), 对于支原体的检测要求定制而成, 与传统的选择性培养基培养检测方法相比较, 本方法更为快速, 具有高灵敏性, 高特异性和高性价比。不会由于培养法检测时大量培养支原体可能带来的次级污染的问题。

产品规格:

组分/货号	U82-426B (50 rxns)	U82-426A (20 rxns)
Mix	3*500 μ L	600 μ L
Positive	56 μ L	22 μ L

常见支原体种类:

支原体种类	中文名称	PCR 条带大小
M. orale	口腔支原体	462 bp
M. hyorhinis	猪鼻支原体	464 bp
A. laidlawii	莱氏无胆甾原体	438 bp
M. salivarium	唾液支原体	466 bp
M. arginini	精氨酸支原体	465 bp
M. fermentans	发酵支原体	461 bp
M. hominis	人型支原体	463 bp
M. pneumoniae	肺炎支原体	470 bp

运输方式:

4°C

储存条件及有效期:

4°C, 1 个月; -20°C, 18 个月。

操作步骤:

- 待检样品，直接取 2 μ L 上清液作为 PCR 模板；
(注：悬浮细胞需要 1000 rpm 离心 4 min)
- 反应体系配置：

无菌水	19 μ L
Mix	29 μ L
样品/对照	2 μ L

3. PCR 反应程序:

94 $^{\circ}$ C	90 s	} 20 cycles (每 2 个循环降 1 $^{\circ}$ C, 或者每 1 个循环降 0.5 $^{\circ}$ C。)
94 $^{\circ}$ C	30 s	
70-61 $^{\circ}$ C	30 s	
72 $^{\circ}$ C	45 s	
94 $^{\circ}$ C	30 s	} 20 个循环
60 $^{\circ}$ C	30 s	
72 $^{\circ}$ C	45 s	
72 $^{\circ}$ C	4 min	

- 取 5ul PCR 扩增产物，使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 结果。

结果分析:

不同种类的支原体检测条带大小不同，下图列出了引起细胞污染的 8 大种类常见支原体，若 PCR 条带在 400bp~600bp 范围内，均可判断为支原体污染。

也可将 PCR 产物进行 TA 克隆、测序进一步鉴定支原体的种类。

