

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。

