

支原体快速检测试剂盒（PCR法）

货号：PB180525

规格：20Tests/50Tests/100Tests

保存：-5~-20℃，24 个月

一、产品描述

支原体检测试剂盒由普诺赛技术团队精心优化，经过长期测试，可用于检测细胞培养基、血清和细胞培养液等生物制品中的常见支原体，包括精氨酸支原体（M.arginini）、猪鼻支原体（M.hyorhinis）、口腔支原体（M. orale）、肺支原体（M.pulmonis）、牛支原体（M. bovis）和酵母菌支原体（M. yeatsii）等。针对常见支原体保守序列设计特异性引物，可以直接使用细胞培养液作为检测模板，特异性扩增支原体 DNA。本产品操作简单、特异性强、灵敏度高。

二、试剂盒组成

Component	Volume (20Tests)	Volume (50Tests)	Volume (100Tests)
Taq PCR Master Mix (With Dye), 2 ×	0.2 mL	0.5 mL	1 mL
Primer Mix	16 µL	40 µL	80 µL
Positive Control	16 µL	40 µL	80 µL
MycoFree H ₂ O	1 mL	1 mL	1 mL

三、操作步骤

注意：PCR反应体系的液体配置过程请在无菌无支原体环境操作，如超净台或者生物安全柜，需严格无菌操作，避免外源污染造成结果假阳性。

- 细胞培养48-72 h，建议待细胞密度生长至80%以上时，取10 µL细胞培养液做PCR模板备用。（悬浮细胞1500 rpm离心3 min，再取上清液）。
- 在PCR专属区域参照下表配置PCR反应体系，需设置阴性对照（MycoFree H₂O）与阳性对照（Positive Control）组。

PCR反应体系配置建议：

Component	Test Sample	Positive Control	Negative Control
Taq PCR Master Mix (With Dye), 2 ×	10 µL	10 µL	10 µL
Sample	Test Sample 2 µL	Positive Control 2 µL	/
Primer Mix (10 µM)	0.8 µL	0.8 µL	0.8 µL
MycoFree H ₂ O	7.2 µL	7.2 µL	9.2 µL

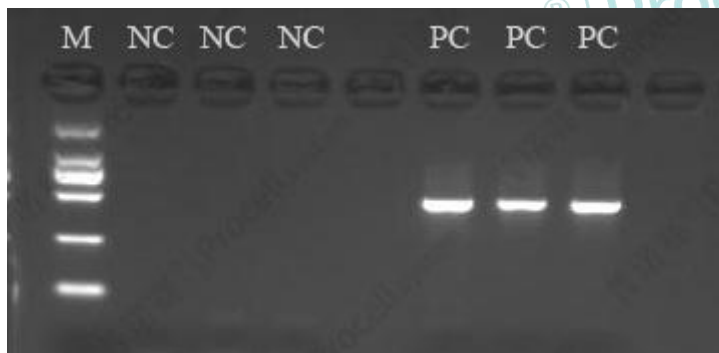
- 轻柔混匀体系，按照下表所示设置PCR反应程序：



Step	Temperature	Duration	Cycles
1	94°C	3 min	1
2	94°C	15 s	35-40*
3	60°C	15 s	
4	72°C	15 s	
5	72°C	1 min	1
6	4°C	-	-

* 一般推荐的循环数为35，若需复测获得更明亮的条带才使用40循环。

4. PCR结束后应尽快检测，如无法立即检测，可将PCR产物保存在4°C待用，不要存放超过一周。
5. 凝胶电泳：取10 μ L产物，1-1.5%的琼脂糖凝胶电泳（推荐160 V，15 min），用凝胶影像分析仪拍照并保存结果。
6. 通过与阳性对照组和阴性对照组结果比较，判断样品支原体是否存在污染情况。阳性条带大小约500 bp，随种属差异略有浮动。



四、注意事项

1. 确保所有试剂在使用前彻底解冻（4°C冰箱放置 2 h 或常温放置 0.5 h）。解冻后请将所有组分离心（推荐 1000 rpm，30 s）后混匀（尤其是液体量较少的组分，离心收集管壁液体），再使用。
2. PCR 体系配置完成后应尽快放入 PCR 仪反应，或暂存于 4°C冰箱保存（6 h 以内）。产品现配现用，不建议配置好的反应体系过夜放置。
3. 试剂应尽量避免反复冻融。产品若在 4°C存放，请在 3 个月内使用完毕。长期不使用请于-5~-20°C冻存。
4. 待检测样本取样后应 48 h 内尽快检测，若无法立即检测，请低温（-5~-20°C）保存并在一月内检测完毕。
5. 操作时请佩戴口罩，避免口腔中可能携带的支原体污染样本造成假阳性结果。
6. 针对条带较弱的样本或其他存疑情况，可将样本进行 10 倍浓缩后复检确认。浓缩操作：12000 rpm 离心 3 min，去上清；加入原液 1/10 体积的无支原体水（自备）再次混匀即可。
7. 所有产品请于保质期内使用，超出保质期，必须放弃使用。

