

大圣支原体 PCR 检测试剂盒

【产品货号】 货号：202010 规格：50 次

【产品简介】

PCR Mycoplasma Test Kit 可用于各种生物材料(如细胞培养物、实验动物分泌物、动物血清等) 支原体感染的检测。应用聚合酶链式反应技术 (PCR) 对支原体 16s-rRNA 基因保守区域的特异性片段进行扩增检测。该方法可以在数小时内得到结果,与传统的选择性培养基培养检测方法相比较, 本方法更快速, 灵敏度和特异性更高, 不会出现由于培养法检测时大量培养支原体而可能带来的次级污染的问题。国内外研究表明, 细胞培养的支原体污染中, 有 98%以上是由以下五种支原体引起的: M. orale、M. arginini、M. hyorhinis 和 A. laidlawii, M. Fermentans。本试剂盒能检测包括以上五种常见支原体在内的 40 多种支原体。

【试剂盒组成】

(1) 2 × PCR Mix; (2) 阳性对照 ; (3) 使用说明书

【原理】

PCR 检测试剂盒中 2 × PCR Mix 含有 PCR 反应所需要各种试剂组分, 如: 引物、dNTPs、缓冲液、Taq 酶、稳定剂等。只需将 2 × PCR Mix 用无菌去离子水 2 倍稀释后加入 1 μl 检测样品, 即可进行 PCR 扩增反应。PCR 扩增产物经琼脂糖电泳染色判断, 阳性样本将在 270 bp 处出现特异性条带。

【使用方法】

实验所需器材与试剂

1.1 器材

(1) PCR 仪; (2) 台式离心机; (3) 干式恒温器; (4) 水平电泳槽; (5) 稳压稳流电源; (6) 凝胶成像仪。

1.2 试剂

(1) 琼脂糖; (2) EB (溴化乙锭); (3) 灭菌去离子水或双蒸水。

【实验步骤】

1. 支原体检测样品预处理:

- (1) 待检测的细胞应在不含抗生素的培养液中培养 2-3 天。
- (2) 将 1 ml 待检测样品 (细胞培养上清)、阳性对照 (确定支原体污染的细胞培养上清)、阴性对照 1 (无菌水)、阴性对照 2 (确定无支原体污染的细胞培养上清) 吸入 1.5 ml 离心管中, 13000 rpm 离心 10 min, 弃上清。
- (3) 在上步的沉淀中加入 200ul 灭菌去离子水或双蒸水, 煮沸 10 min。
- (4) 13000rpm 离心 10min, 取上清作为 PCR 的反应模板。

本产品仅供科研使用

2. PCR 反应:

取 5 μ l 处理好的样品上清与 5ul 2 \times PCR Mix 等体积混合，震荡混匀，PCR 检测将所有 PCR 反应管放入 PCR 仪，参照以下参数运行 PCR 仪:

预变性	94°C	for 5 min	
循环	94°C	for 30 sec	} 29 cycle
	53°C	for 30 sec	
	72°C	for 40 sec	
延伸	72°C	for 5 min	
	10°C	Hold	

3. PCR 产物的电泳检测:

取 5 μ l PCR 扩增产物，在 1%琼脂糖凝胶上直接点样（注：无需再加溴酚蓝，扩增产物已包含溴酚蓝）电泳结束后凝胶成像系统检测。

电泳参考图:



M: DL2000

N: ddH₂O

S1-3: 为支原体阴性的样品

S4: 为支原体阳性的样品

P: 为阳性对照

【注意事项】:

- (1) 使用本试剂盒前请仔细阅读本说明书全文。
- (2) 操作时应尽量少说话，戴口罩，因口腔中也含有支原体，可能引起样品污染，而造成假阳性；整个检测过程中，反应体系的配制、样本处理及加样、PCR 扩增应分区域进行，以避免交叉污染。
- (3) 实验时，试剂盒组分中 2 \times PCR Mix 使用前应充分融化并混匀（混匀时禁止激烈振荡，只需要进行上下倒置多次进行混匀），尽量保持冰上操作，避免反复冻融。
- (4) 反应管中加好所有的试剂后，应尽快上 PCR 仪进行扩增，以免形成过多的二聚体。
- (5) 细胞培养物中含有青霉素和链霉素等抗生物素不会影响本品的检测结果。如果用户需要进一步提高检测灵敏度，建议细胞在不含青霉素和链霉素等抗生素中进行培养 2-3 天后送样检测。

本产品仅供科研使用