

产品说明书

GeneCopoeia™
Expressway to Discovery

GeneCopoeia Inc.
9620 Medical Center Drive, Suite 101
Rockville, MD20850, USA
Tel: +1(301)762-0888;
Fax: +1(301)762-3888
Web: www.genecopoeia.com

Mycoguard™ Mycoplasma PCR Detection Kit 2.0

产品货号: MP004

产品编号	产品内容	包装规格	储存条件
MP004-01	Mycoguard™ Master Mix II	450 µL	-20°C 保存至少 12 个月
MP004-02	Mycoguard™ Primer Mix	450 µL	-20°C 保存至少 12 个月
MP004-03	Positive Control	40 µL	-20°C 保存至少 12 个月
MP001-02	Ultrapure Water	1 mL	室温保存至少 12 个月

注意: Positive Control组份管内液体正常为粉红色, 收到时请第一时间核实。如颜色异常, 请及时联系我司技术支持。

■ 产品简介

Mycoguard™ Mycoplasma PCR Detection Kit 2.0 是一种快速简便的支原体检测试剂盒。它以灵敏的 PCR 技术为基础, 含优化的 Mycoguard™ Master Mix II、Mycoguard™ Primer Mix、超纯水和阳性对照, 可应用于细胞培养过程及细胞培养相关试剂的支原体检测。

Mycoguard™ Primer Mix 含有特定引物, 能特异扩增支原体基因组的 rDNA 保守序列, 可检测细胞培养过程中常见的多种支原体, 如 *M. arginini*、*M. arthritis*、*M. bovis*、*M. hominis*、*M. fermentans*、*M. genitalium*、*M. hyorhinitis*、*M. neurolyticum*、*M. orale*、*M. pirum*、*M. pneumoniae*、*M. pulmonis*、*M. salivarium* 和 *U. urealyticum*, 本试剂盒能检测包括以上常见支原体在内的 50 多种支原体。受支原体污染的样品可通过 260-280 bp 的 PCR 扩增产物轻易识别。

■ 产品优势

简便 —— 取样后无需预处理细胞培养基; 反应体系配制简单

快速 —— 2 小时即可完成检测

特异性强 —— 只扩增支原体 DNA, 真核细胞和细胞 DNA 不被扩增

■ 样品准备

进行细胞取样时, 样品不需要进行预处理。但为了获得更精确的检测结果, 待测样品的建议状态是 2 天或以上未更换培养基, 细胞融合率超过 80%。样品的准备可在室温条件下操作。

方案 1——快速取样操作

- 使用 PCR 管: 取 2-5 µL 细胞培养物, 以纯水稀释 10 倍。取 2-6 µL 稀释后的细胞培养物 (相当于 0.1-0.3 µL 原始培养物) 作为待检样品。
- 使用 1.5 mL 离心管: 转移 50 µL 细胞培养物至 1.5 mL 离心管, 盖紧离心管盖, 95°C 温育 5-10 min; 温育后, 以纯水稀释 10 倍, 12,000 rpm 离心 2 min 使变性蛋白沉淀。取 2~6 µL 上清液 (相当于 0.1-0.3 µL 原始培养物) 作为待检样品。

提醒:

- 如取样对象为悬浮细胞, 无需从培养基中去除细胞。
- 以 20 µL 体系进行 PCR 时, 建议细胞培养物原液 (PCR 模板) 不超过 1 µL。当样品浓度过高时, 培养基中的血清蛋白或其他组分将抑制 PCR 反应, 影响结果的准确性。
- 95°C 温育的待检样品可在 4°C 条件下储存 1~2 个月。

方案 2——浓缩细胞培养物中的支原体 DNA 为检测培养基中低浓度的支原体, 建议在 PCR 检测前按照以下方案浓缩培养基中的支原体 DNA:

1. 转移 1 mL 培养基至 1.5 mL 离心管, 12,000 rpm 离心 5 min, 去除上清液;
2. 以 1 mL PBS 重悬沉淀, 12,000 rpm 离心 5 min, 去除上清液;
3. 至少以 PBS 洗涤沉淀 2 次, 去除上清液;
4. 以 100 µL 纯水重悬沉淀;
5. 盖紧离心管盖, 95°C 温育 5-10 min, 12,000 rpm 离心 2 min 使变性蛋白沉淀, 吸取上清液;
6. 取 0.1-10 µL 上清液作为待检样品。

提醒:

- 无需从培养基中去除细胞或细胞碎片。
- 95°C 温育的样品可在 4°C 条件下储存 1-2 个月。

选择方案 3——分离细胞培养物中的支原体 DNA

如待检样品的细胞数量较少（可能为细胞生长已受支原体抑制），为精确获得检测结果，推荐使用以下方案：

1. 进行细胞计数后，取 10⁴-10⁵细胞至 1.5 mL 离心管，6,000 rpm 离心 1 min，去除上清液；
2. 以 1 mL PBS 重悬沉淀，6,000 rpm 离心 1 min，去除上清液；
3. 重复步骤 2；
4. 以 100 μL 纯水重悬沉淀；
5. 盖紧离心管盖，95°C 温育样品 5-10 min，12,000 rpm 离心 2 min，使变性蛋白沉淀，吸取上清液；
6. 取 0.1-10 μL 上清液作为待检样品。

提醒:

- 95°C 温育的样品可在 4°C 条件下储存 1-2 个月。

■ PCR 检测

1. 将 MycoGuard™ Master Mix II 和 Positive Control 置于冰上使其完全融解，融解后轻柔混匀管内溶液；短暂离心使管壁溶液聚集到底部，置于冰上待用。
2. 按照下表，在冰上准备 PCR 反应液。**注意！检测中应同时设置阴性对照和阳性对照。**

反应液组份	阴性对照	阳性对照	待检样品
MycoGuard™ Master Mix II	9 μL	9 μL	9 μL
Mycoplasma 或 Positive Control	-	2 μL	2 μL
MycoGuard™ Primer Mix	9 μL	9 μL	9 μL
Ultrapure Water	2 μL	-	-
终体积	20 μL	20 μL	20 μL

3. 轻柔混匀反应液，短暂离心使管壁溶液聚集到底部，按下表程序启动 PCR 反应：

循环数	步骤	温度	时间
1	预变性	94°C	5 min
	变性	94°C	15 sec
40	退火	55°C	20 sec
	延伸	72°C	20 sec
1	保温	72°C	2 min

4. 取 5-10 μL 的 PCR 产物，以 2%-3% 琼脂糖凝胶电泳进行分析。

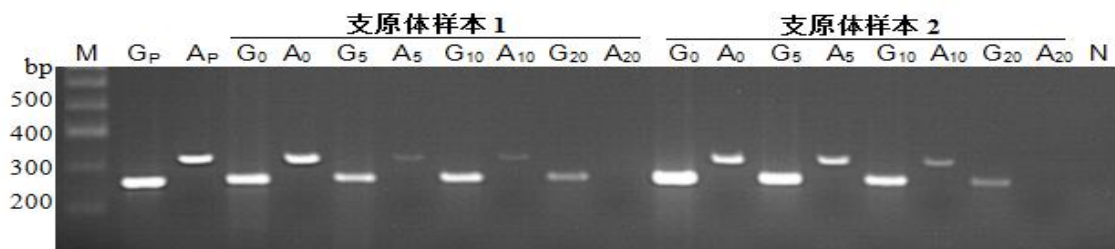


图 1. PCR 凝胶电泳分析示例

G: GeneCopoeia A: 竞争公司 M: 100 bp DNA marker N: 阴性对照
 G_P, A_P: 阳性对照
 G₀, A₀: 支原体样本原液
 G₅, A₅: 支原体样本稀释5倍
 G₁₀, A₁₀: 支原体样本稀释10倍
 G₂₀, A₂₀: 支原体样本稀释20倍

该产品仅限于实验科学研究用，若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。



地址：广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器F区F801 邮编：510663
 客服电话：020-28069233 E-mail: support@igenebio.com 网址：www.igenebio.com