



## 支原体检测试剂盒-目视法

Colorimetric Mycoplasma detection kit  
(visual detection)

✉ [info@ezassay.com](mailto:info@ezassay.com)

🌐 [www.ezassay.com](http://www.ezassay.com)

深圳易致生物科技有限公司

目录编码: MYCO-LM-RED-16  
MYCO-LM-RED-96

# 目录 CONTENTS

内容	页码
试剂盒介绍	1
试剂盒组成	1
储存	1
操作示意图	2
操作步骤	2
注意事项	3

## 试剂盒介绍

### Introduction

在细胞培养中，支原体污染是常见问题。与细菌污染物不同，支原体不会被肉眼检查到，也很难用光学显微镜进行检测。支原体与细胞是寄生关系，不致死细胞，但会改变细胞代谢、引起染色体畸变、减缓细胞生长和干扰细胞附着，对实验数据与细胞生产造成严重影响。根据FDA、ATCC和其他人的研究，估计单被支原体污染的细胞培养物占5~30%。

本试剂盒将酶与buffer预混，实现一管式检测，仅通过观察颜色即可判定结果，操作简便、结果直观、灵敏度高、特异性强且防污染。可检出多种支原体，包括但不限于：（1）M. hyorhinis、（2）M. fermentans、（3）M. arginini、（4）M. hominis、（5）M. orale、（6）M. salivarium、（7）M. pirum、（8）A. laidlawii、（9）M. pneumoniae、（10）M. bovis、（11）M. bovoculi、（12）A. axanthum、（13）M. buccale、（14）M. agalactiae（15）M. arthritidis、（16）M. pulmonis、（17）M. gallisepticum、（18）M. gallinarum、（19）M. canis、（20）Ureaplasma urealyticum。

## 试剂盒组成

### Contents

组份	MYCO-LM-RED-16	MYCO-LM-RED-96
Mycoplasma Dye Mix	400μL	400μL*6
阳性对照(5X) (Positive Control DNA)	10 μL	10 μL*6
矿物油 (Mineral Oil)	400μL	400μL*6

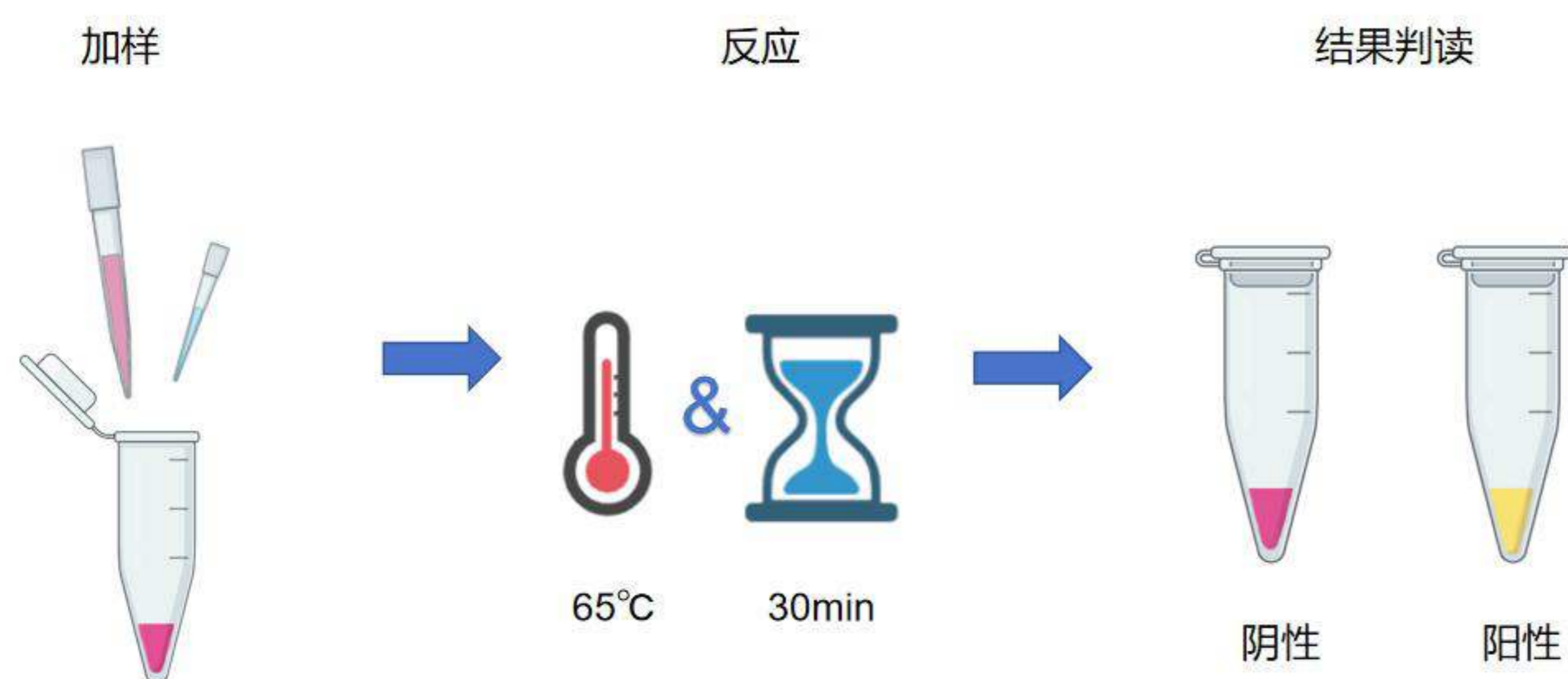
## 储存

### Storage

-20°C保存，有效期一年。

## 操作示意图

### Diagram of quick guide



## 操作步骤

### Steps

#### 1. 样本处理

- 取细胞培养液200 $\mu$ L到1.5 mL离心管内99 °C加热5分钟，冷却后，短暂离心管壁上液滴，取上清进行检测。

#### 2. 检测反应

- 按下表配制反应体系：

组分	待测样本*	阳性对照	阴性对照
Mycoplasma Dye Mix	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L	20 $\mu$ L
待测样本*	5 $\mu$ L	-	-
Nuclease-free ddH2O	-	-	5 $\mu$ L
阳性对照(5X) (Positive Control DNA)	-	5 $\mu$ L	-
Total	25 $\mu$ L	25 $\mu$ L	25 $\mu$ L

\*样本用纯水溶解或稀释，避免使用Tris-HCL等缓冲体系。否则PH指示剂不能发生变色，影响实验结果判读。

注：若在水浴锅中进行反应，则需在每个反应体系中加入20  $\mu$ L Mineral Oil，防止液体蒸发导致结果不准确。若在PCR仪中进行反应，将热盖温度设为65°C，则无需加入Mineral Oil。

- 涡旋混匀，并短暂离心收集至管底，确保反应体系中无气泡，65°C孵育30min。

### 3. 观察结果

- 反应结束后，待冷却至室温后取出反应管，置于光线良好的环境中观察（建议以白纸作为背景）。如反应液为洋红色，则为阴性结果；如反应液为橙黄色则为阳性结果。



结果判读示意

## 注意事项

### Notes

1. 贴壁细胞需培养至少3天且汇合度90%，取细胞培养液上清检测。
2. 悬浮细胞需培养至少3天，2300 rpm (约500 g) 离心5分钟，取细胞培养液上清检测。
3. 对于浓度极低的支原体，可将反应时间30分钟延长至40-60分钟。或者按照以下步骤富集支原体：  
①取1mL 细胞培养液加入到1.5 mL离心管内，在离心机上13000 rpm (大约16000 g)离心5 min，去除上清（留50 $\mu$ L），加200 $\mu$ L PBS或ddH<sub>2</sub>O。② 99 °C加热5 min，简单离心混匀后取上清进行检测。
4. 由于本试剂使用的是pH指示剂法，该试剂中的缓冲液能力较弱，试剂不可长期接触空气，否则会吸附空气中的二氧化碳致使试剂变酸，导致试剂颜色变浅，影响实验结果判读。
5. 关于阳性对照和无模板对照建议至少每1~2周检测一次。
6. 本试剂盒提供的阳性对照仅含有DNA，并不会造成支原体污染。  
试剂盒灵敏度非常高，反应后请勿打开盖子，以防对下次试验造成污染。（avoid carry-over contamination）