



## 支原体检测试剂盒-防污染版

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

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

EZassay Biotechnology Ltd.

Catalog Code: MYCO- FR-LYO-16  
MYCO- FR-LYO-96

# 目录 CONTENTS

内容	页码
试剂盒介绍	1
试剂盒组成	1
需要但未提供的试剂	1
支原体产品系列对比	2
操作步骤	2
简易操作图	3
支原体检测结果比较	3
注意事项	4

## 试剂盒介绍

### Product 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%。

本试剂盒采用试纸条与恒温扩增技术，简单快速检出常见的支原体污染，包括 (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*。检测灵敏度媲美PCR，检测结果与培养法（药典标准）高度一致。更重要的是，采用独家专利设计耗材，有效防止气溶胶污染，让检测更省心，结果更可靠！

## 试剂盒组成

### Materials supplied

组份	储存温度	MYCO- FR-LYO-16	MYCO- FR-LYO-96
反应管① (Reaction Tubes ①)	-20°C	16T	96T
反应管② (Reaction Tubes ②)	室温	16T	96T
复溶液(2X) (Rehydration Buffer)	-20°C	400 μL	400 μL*6
阳性对照(25X) (Positive Control DNA)	-20°C	10 μL	60 μL

## 需要但未提供的试剂

### Other materials required

1. 金属浴（兼容1.5ml离心管）
2. 移液器（1~100μL）和一次性吸头
3. 蒸馏水

## 支原体产品系列对比：

### Mycoplasma Product Series Comparison

名称	货号	检测灵敏度	设备需求	反应时间	应用示例
支原体检测试剂盒-防污染V2*	MYCO-CE-LYO-96	≤10CFU/mL	水浴锅或金属浴	30分钟	快速，高灵敏检测； 低通量（样本量<20）
支原体检测试剂盒-qPCR探针法*	MYCO-QPCR-96	≤10CFU/mL	qPCR仪	90~120分钟	高灵敏，高通量检测 （样本量>50）
支原体检测试剂盒-目视法	MYCO-LM-RED-96	≤100CFU/mL	水浴锅或金属浴	30分钟	快速回答yes or no； 低通量检测（样本量<20）

\*检测种类包括药典规定的常见支原体，满足中国药典、欧洲药典、日本药典、美国药典和常规细胞检测。

## 操作步骤

### Steps

#### 1. 样本处理

- 取细胞培养液200μL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

- 按需取相应数量的反应管①（Reaction Tubes ①），按下表加入对应成分：

组分	体积
复溶液(2X)	25 μL
待测样本*	5~25 μL
纯水或蒸馏水	Up to 50 μL

\*无模板对照组（阴性对照）加入纯水或蒸馏水25 μL；

样本组加入处理后的样品5-25 μL；

阳性对照组加入1 μL阳性对照品（25X）。

- 轻弹5-10次，使液体充分混匀，瞬时离心，将反应管①插入反应管②底部（注意防止反应管②试纸条直接插入液体内），65°C加热30min；

- 反应结束后，顺时针旋转反应管②顶部按钮，使试纸条完全插入反应管①底部，2-5分钟内观察试纸条结果。

## 简易操作图

Diagram of quick guide



## 支原体检测结果比较

Comparison of detection results of mycoplasma

细胞培养液	细胞培养法 (第三方认证)	Q-PCR 荧光探针 (S 公司)	支原体检测试纸 (易致生物)	支原体检测试纸 v.s. 细胞培养法
样本-1	阳性 	阴性	阳性 	阳性符合率= 100%
样本-2		阳性		
样本-3		阳性		
样本-4		阳性		
样本-5	阴性 	阴性	阴性 	阴性符合率= 100%
样本-6		阴性		
样本-7		阴性		
样本-8		阴性		

## 注意事项：

### Note

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，1000 rpm (约150 g) 离心5分钟，目的是去除细胞，减少对支原体检测的影响，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。②99 °C加热5 min，简单离心混匀后取上清进行检测。
4. 关于阳性对照和无模板对照建议至少每1~2周检测一次。
5. 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。无模板对照使用 PCR grade water或者灭菌的PBS即可。
6. 温控设备可以用金属浴，水浴锅或PCR仪。PCR仪确保关闭热盖，务必提前关闭热盖后运行控制热盖温度。某些品牌PCR仪开机后热盖会默认升温到105°C。建议运行几个循环，将热盖温度降至70°C以下。