



支原体LAMP检测试剂盒（比色法）

Colorimetric Mycoplasma Detection Kit
(Phenol Red Method)

✉ info@ezassay.com

🌐 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
产品特点	1
操作示意图	2
操作步骤	2
注意事项	3

试剂盒介绍

Introduction

本试剂盒基于 LAMP（Loop-mediated Isothermal Amplification）技术，采用酚红（Phenol Red）比色法，可快速检测细胞培养中的支原体污染。试剂盒将扩增酶与反应缓冲液预混，仅需加入样本即可完成一管式检测，无需 PCR、qPCR、电泳或 ELISA 等仪器设备，仅通过观察反应颜色变化即可判定检测结果。

本试剂盒约 30 分钟即可完成检测，操作简便、结果直观，适用于 CHO、HEK293、Vero、Sf9、Hybridoma 等多种贴壁和悬浮细胞培养上清中的支原体检测。

本试剂盒以支原体16S rRNA基因为检测靶标，可检测多种常见支原体，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 和（20）Ureaplasma urealyticum。

试剂盒组成

Contents

组份	MYCO-LM-RED-16	MYCO-LM-RED-96
支原体比色预混液	320μL	320μL*6
阳性对照(5X)	10 μL	10 μL*6
矿物油	400μL	400μL*6

储存

Storage

收到产品后，建议按使用量分装，并于 -20℃ 保存，避免反复冻融。

产品特点

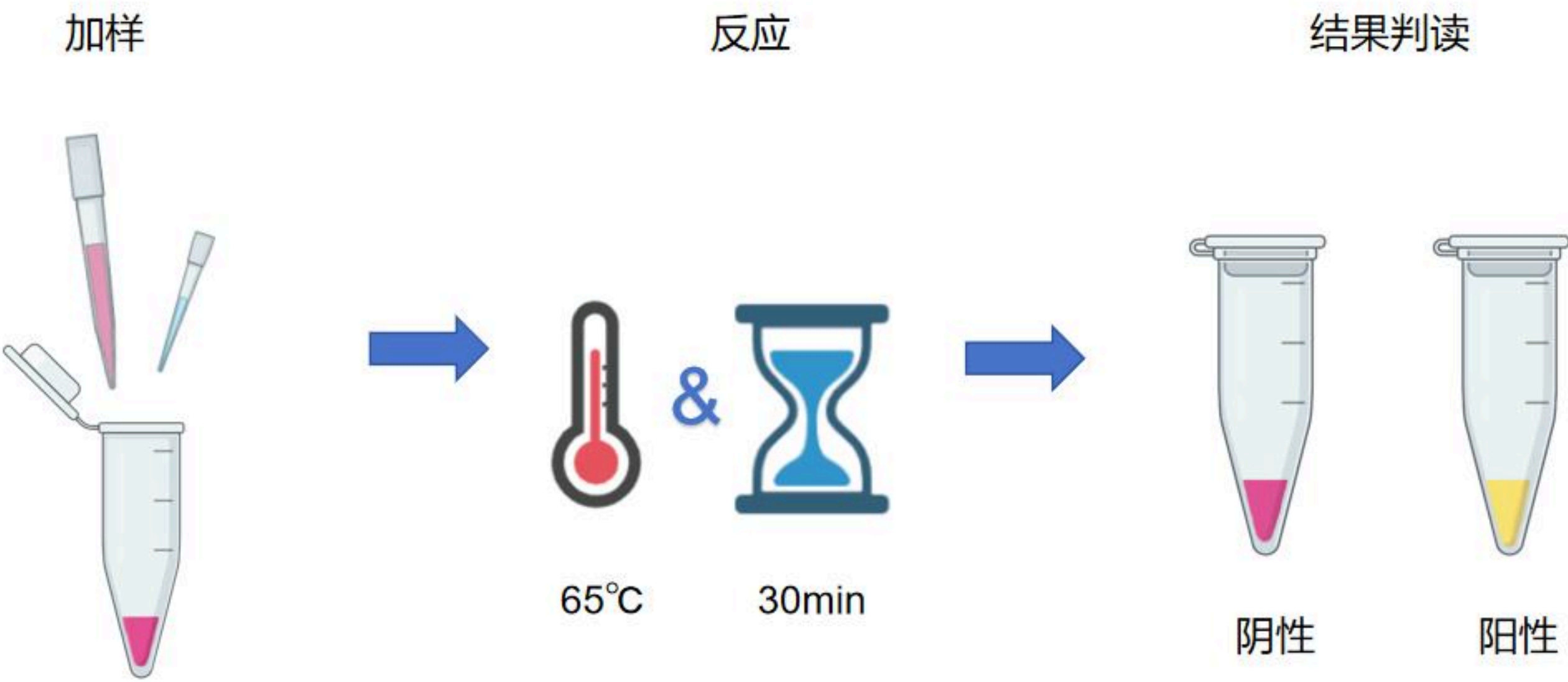
Product Features

- 一管式检测：酶与反应缓冲液预混，仅需加入样本即可完成检测。
- 快速检测：约 30 分钟即可完成支原体检测。
- 结果直观：通过反应液颜色变化即可直接判读结果，无需专业检测设备。
- 操作简便：无需 PCR、qPCR、电泳或 ELISA 等仪器设备。
- 检测范围广：靶向支原体 16S rRNA 基因，可检测多种常见支原体。

- 适用性广：适用于 CHO、HEK293、Vero、Sf9、Hybridoma 等贴壁和悬浮细胞培养上清的支原体检测。
- 适合日常质控：特别适用于细胞培养实验室支原体污染的快速筛查与常规质量控制（QC）。

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200μL到1.5 mL离心管内12000rpm离心2分钟，加入50μL DEPC水溶解混匀；
 - 99 °C 加热 5 分钟，冷却至室温后，短暂离心收集管壁及管盖上的液滴，取上清用于检测。

注：**本步骤为必做步骤**。高温处理可去除培养液中可能影响 LAMP 反应和 pH 指示剂显色的干扰因素，提高检测结果的准确性。
2. 检测反应
 - 按下表配制反应体系：

组分	样本组	阳性对照	阴性对照
支原体比色预混液	20 μL	20 μL	20 μL
待测样本*	5 μL	-	-
ddH2O	-	-	5 μL
阳性对照(5X)	-	5 μL	-
Total	25 μL	25 μL	25 μL

*样本用纯水溶解或稀释，避免使用Tris-HCL、PBS、TE Buffer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：若在水浴锅或金属浴中进行反应，待反应体系混匀后，在上层加入20 μ L 矿物油，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75 $^{\circ}$ C，则无需加入矿物油。

- 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 $^{\circ}$ C孵育30分钟。

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 分钟，去除上清（留50 μ L），加200 μ L PBS或ddH₂O。
 - ② 99 $^{\circ}$ C加热5 分钟，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。收到产品后，建议按使用量分装，并于 -20 $^{\circ}$ C 保存，避免反复冻融。
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。
7. 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。

© Ezassay Biotechnology, Inc 03

核酸与蛋白产品专业提供商

Professional supplier of point-of-care test products

EZ assay 深圳易致生物科技有限公司

🌐 www.ezassay.com

✉ info@ezassay.com