

TransDetect[®] Luciferase Mycoplasma Detection Kit

发光法支原体检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FM301

版本号: Version 2.0

保存: 试剂盒于-20°C避光保存一年。配制好的支原体检测反应液 (MycoDetect Reagent) 和底物 (MycoDetect Substrate) -70°C保存六个月, -20°C保存一个月, 2-8°C保存一周。

产品说明

本产品利用支原体中所特有的酶设计而成, 该酶分解MycoDetect Substrate的同时将ADP转换成ATP, 荧光素酶在ATP存在的条件下催化荧光素 (luciferin) 氧化发出生物荧光, 通过检测生物荧光可以表征细胞培养物是否存在支原体污染。该方法灵敏度高、操作简便、省时, 由于检测的是真正具有生物活性的支原体, 所以得到的结果比PCR检测方法更加准确。

试剂盒组成

Component	FM301-01-V2 (25 rxns)	FM301-02-V2 (50 rxns)
MycoDetect Reagent (lyophilized)	2 Vials	4 Vials
MycoDetect Substrate (lyophilized)	2 Vials	4 Vials
TransDetect [®] Luciferase Mycoplasma Detection Positive Control	250 µl	500 µl
MycoFree Water	2×1.5 ml	4×1.5 ml

操作步骤

1、试剂配制

(1)分别用700 µl MycoFree Water充分溶解冻干状态的MycoDetect Reagent和MycoDetect Substrate。

注: 为了增加检测结果的准确性, MycoDetect Reagent和 MycoDetect Substrate最好现用现配, 如果溶解后一次用不完, 建议-20°C保存。

(2)为避免反复冻融, 可将阳性对照试剂TransDetect[®] Luciferase Mycoplasma Detection Positive Control进行分装, 并于-20°C保存。

2、收集细胞培养液

待测细胞培养24小时以上, 收集细胞培养液, 400×g离心3分钟, 取上清立即检测或者放置在2-8°C, 在一周之内检测, 避免冻融收集的细胞培养液。

注: 为了使检测结果更加准确, 建议取样时细胞的汇合度在80%以上。

3、检测 (以下操作需要避光)

(1)将配制好的MycoDetect Reagent、 MycoDetect Substrate、 阳性对照试剂和待检测的细胞培养液平衡至室温。

(2)于1.5 ml离心管或者96孔板中加入50 µl待检测细胞培养液、阳性对照、阴性对照 (无菌水、PBS或新鲜培养液)。推荐每次检测设置一个阳性对照。

(3)向上述板孔中加入50 µl MycoDetect Reagent, 用移液枪混匀后室温反应5-10分钟。

注: 用移液枪轻柔混匀, 尽量不要产生大气泡, 管或孔边缘的少量小气泡不会影响检测结果的准确性。

(4)于化学发光仪 (luminometer) 中读取发光值, 记为数据A。

(5)向步骤 (3) 的反应体系中加入50 µl MycoDetect Substrate, 用移液枪混匀后室温反应10-15分钟。

注: 用移液枪轻轻混匀, 尽量不产生大气泡, 管或孔边缘的少量小气泡不会影响检测结果的准确性。

(6)于化学发光仪 (luminometer) 中读取发光值, 记为数据B。



(7)数据分析：阳性对照试剂：如果 $B/A \geq 5$ ，则此次实验结果可信；如果 $B/A < 5$ ，则检测试剂盒活性降低，结果不可信。
待测样品：如果 $B/A \geq 1$ ，说明细胞培养物中存在支原体污染；如果 $B/A \leq 0.8$ ，说明细胞培养物中没有支原体污染；如果 B/A 在0.8-1之间，建议继续培养细胞24-48小时，再一次检测是否存在支原体污染，如果 B/A 仍在0.8-1之间，则该细胞培养物为支原体阴性。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号：V2.0-202304

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

