

TransDetect[®] PCR Mycoplasma Detection Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FM311

保存: -20℃保存两年。

产品说明

本产品通过PCR方法检测培养细胞等生物材料中的支原体，针对支原体16S rRNA序列保守区域设计特异引物，直接使用细胞培养液作为模板，特异性扩增支原体DNA，具有操作简便、快速（2小时内即可出结果）、特异性强、灵敏度高的特点。

特点

- 灵敏度高，可检测低至20个拷贝的支原体。
- 特异性强，只扩增支原体DNA，真核细胞和细菌DNA不被扩增。
- 操作简便，无需提取基因组DNA，适合大量细胞样品的检测。
- 配有阳性对照与阴性对照，保证PCR检测结果的准确性。

试剂盒组成

Component	FM311-01 (100 rxns)
TransDetect [®] PCR Myco SuperMix (2×)	1 ml
Myc Primer Mix	40 μl
Myc Positive Control Template	40 μl
MycFree Water	1 ml

操作步骤

1、样品制备

a、贴壁细胞

待细胞培养2-3天，生长至汇合度80%左右时，取40 μl细胞培养液放入干净的PCR管中，置于PCR仪中95℃热处理10分钟后用作PCR模板。

b、悬浮细胞

待细胞培养2-3天，密度达到10⁶/ml左右时，2,000×g离心1分钟，取40 μl细胞培养液放入干净的PCR管中，置于PCR仪中95℃热处理10分钟后用作PCR模板。

注：未进行热处理或者热处理后的样品可以放置在-20℃稳定保存1个月以上。培养时间特别长（4天以上）的细胞培养液，建议用MycFree Water 10倍稀释细胞培养液后再检测。

c、血清

用MycFree Water将血清稀释20倍后，取40 μl放入干净的PCR管中，置于PCR仪中95℃热处理10分钟后用作PCR模板。

2、PCR

戴上干净的口罩与手套，在PCR专属区域内参照下表PCR体系加样，设置阴性对照（MycFree Water）与阳性对照（Myc Positive Control Template），严格操作，防止外源支原体污染。



PCR体系 (20 μ l体系)

Component	Volume
Template	2 μ l
Myco Primer Mix	0.4 μ l
<i>TransDetect</i> [®] Myco PCR SuperMix (2 \times)	10 μ l
MycoFree Water	7.6 μ l
Total volume	20 μ l

3、PCR 循环

94 $^{\circ}$ C	4 min	} 35 cycles
94 $^{\circ}$ C	30 sec	
60 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	30 sec	
72 $^{\circ}$ C	5 min	

4、凝胶电泳：取10 μ l PCR产物，在1.5%琼脂糖凝胶电泳，检测PCR结果。

5、通过与阳性对照、阴性对照检测结果比较，确认样品支原体污染情况，阳性条带大小大约350 bp。

注：如果阴性对照出现条带，很有可能是体系污染，建议重新检测确认结果。

注意事项

- 试剂在使用前彻底化冻、混匀。
- 细胞培养物中含有的青霉素和链霉素等抗生素以及血清不会影响本产品的检测结果。
- 为获得最佳检测效果，建议细胞汇合度达到80%（贴壁细胞）或密度达到 10^6 /ml（悬浮细胞）时取样进行检测。
- 整个检测过程中，请严格按照PCR操作标准在专属区域进行，避免交叉污染。
- 操作时请戴口罩，因口腔中含有支原体，可能会引起样品污染而造成假阳性。
- 为了确保细胞实验的可靠性和稳定性，避免细胞被支原体污染影响实验结果和文章发表，建议定期检测细胞以及细胞培养试剂的支原体污染情况。日常细胞培养很容易被支原体污染，建议使用支原体预防试剂*TransSafe*[™] Mycoplasma Prevention Reagent（目录号：FM501），替代双抗使用，预防污染效果更好。如果被支原体污染的细胞比较珍贵或者难于培养，推荐使用*TransSafe*[™] Mycoplasma Elimination Reagent（目录号：FM401、FM411）清除支原体挽救细胞。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号：V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

