

## 支原体检测试剂盒 (PCR 方法) E2036

**描述:**支原体污染已经成为细胞培养中高度重视的问题,因此定期进行支原体污染检测十分必要。本试剂盒采用 PCR 方法,能特异性检测各种培养细胞生物材料(如细胞培养物、实验动物分泌物、动物血清等)中支原体的污染。试剂盒使用的混合引物针对支原体 16s rRNA 序列保守区域设计,可直接使用细胞培养液作为 PCR 模板,特异性扩增支原体 DNA,搭配配套的 Mix (2×) 组分,一小时内即可完成,灵敏度高,可检测低至 20 个拷贝的支原体。

### 储存与运输

冰袋 (wet ice) 运输; -20°C 保存

### 效期:

有效期 12 个月

### 组成

PCR Mix (2×)	1 mL
Primer Mix	100 μL
Positive Control	50 μL
Free Water	1 mL

### 操作步骤

- 样品准备:**取适量待检细胞培养上清于洁净的 PCR 管中,利用 PCR 仪 95°C 热处理 5 min 后作为模板。血清样本可用 Free Water 稀释后,取适量样本于洁净的 PCR 管中,利用 PCR 仪 95°C 热处理 5min 后作为模板;
- PCR 体系配制:**每次实验需设置阴性对照(将 1μL 待检样品换成等量的 Free Water)与阳性对照(在 1μL 待检样品中加入 0.5μL Positive Control 后一起作为 Template),实验时戴一次性口罩与手套,谨慎操作,防止操作不当引入外源支原体污染;

Component	Volume
Template	1 μL
Primer Mix	2 μL
PCR Mix (2×)	10 μL
Free Water	To 20 μL

### 3. PCR 程序设置：

Step	Temperature	Time	Cycles
Initial Denaturation	98°C	2 min	1
Denaturation	98°C	20 s	30
Annealing	56°C	25 s	
Extension	72°C	10 s	
Final extension	72°C	5 min	1
Hold	4-16°C	Forever	

4. 凝胶电泳：取 10 $\mu$ L PCR 产物，使用 1%琼脂糖凝胶进行电泳检测；

5. 结果分析：每次实验通过与阴性对照、阳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 500 bp 左右。如阴性对照检测结果中有条带很有可能是 PCR 体系中出现污染，建议重新实验确认结果。如有必要，也可对 PCR 产物进行常规测序，以确定具体的支原体种属。

### 注意事项：

1. 本试剂盒可以检测 M. orale , M. arginini , M. bovis , M. fermentans , M. gallisepticum , M. hominis , M. pirum , Ureaplasma spp , M. hyorhinae , M. pneumoniae , A. laidlawii 等至少 11 种以上支原体污染。
2. 所有试剂在使用前于冰上彻底解冻、混匀，使用完毕后于-20°C保存。
3. 每次实验必须设置阴性对照、阳性对照，实验组建议设置样品模板梯度。
4. 操作时必须佩戴口罩，严格按照 PCR 操作标准，防止引入外源污染影响实验结果。
5. 为了确保细胞实验的可靠性及稳定性，建议定期进行支原体污染检测。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。