

一步法快速支原体检测试剂盒(等温扩增法)

One-step Rapid Mycoplasma Detection Kit(Isothermal amplification)

使用说明书

◆货号及规格:

目录编号	包装规格
C639-01	10*1mL

◆产品组成:

组分编号	组分名称	C639-01(50T)
C639-1	Mycored Buffer	1.2mL
C639-2	Mycored Enzyme	50 μ L
C639-3	Positive Control	50 μ L
C639-4	Paraffin Oil	1mL

◆**储存条件:** 4°C运输; -20°C保存, 避免反复冻融, 有效期 12 个月。

◆产品概述:

1. 本产品利用等温扩增技术与可视化颜色变化能够快速检测细胞培养液中常见的 8 种支原体, 无需 DNA 提取, 直接在反应液中加入 1 μ L 细胞培养上清, 65°C 反应 30min, 阳性样本反应液颜色由黄色变为红色, 整个过程无需 PCR 仪, 无需开盖电泳, 可有效避免气溶胶造成的交叉污染。
2. 本产品利用等温扩增技术与传统的 PCR 法相比, 本产品操作简便、灵敏度非常高, 可耐受培养基中的多种 PCR 抑制剂, 因此不会出现假阴性现象, 检测结果与 qPCR 具有极高的一致性。

◆使用方法:

1. **实验前准备:** 65°C 水浴锅或金属浴。
2. **待测样本准备:**
 - 1) **贴壁细胞:** 直接吸取上清。建议在细胞接种或换液 3 天以上, 汇合度达到 90% 左右时取样, 此时上清中支原体含量较高, 容易检出。

2) **悬浮细胞:** 1000rpm 离心 5min 后, 取上清。建议在细胞接种或换液 3 天以上时取样, 此时细胞培养液中支原体含量较高, 容易检出。

3. **反应体系:**

Component	25 μ L
Mycored Buffer	23 μ L
MycoRed Enzyme	1 μ L

注: Mycored Buffer 解冻后颠倒混匀后使用。根据样本数量, 将以上反应体系配好之后, 分装到反应管中, 加入 20 μ L 的 Paraffin Oil, 再进行下一步。

4. **加样:**

- 1) 阴性对照: 第一个反应管中不加任何样本作为阴性对照。
- 2) 阳性对照: 向最后一个反应管中加入 1 μ L Positive Control 作为阳性对照。
- 3) 待测样本: 向其余反应管中加入 1 μ L 细胞培养上清。

注: 请将枪头伸向 Paraffin Oil 液面下加样。

5. **反应条件:** 将反应管转移至提前预热的 65 $^{\circ}$ C 水浴锅或金属浴中, 孵育 30min。

6. **反应条件:** 反应结束后立即将反应管取出, 待恢复至室温后, 如果反应液仍为黄色, 判断结果为阴性; 如果反应液变为红色, 判断结果则为阳性。反应管不可开盖, 否则很容易导致气溶胶污染。如下图:



阴性



阳性

◆**注意事项:**

1. 反应结束后请勿打开反应管, 否则很容易导致气溶胶污染。
2. 建议在配制反应液过程中使用带滤芯的吸头, 并将弃掉的吸头和反应管放入自封袋中, 及时处理。
3. 实验过程中请经常使用核酸清除剂(推荐: NS203)擦拭或喷洒实验台和移液器。
4. 为了您的安全和健康, 请穿戴实验服并佩戴一次性手套进行操作。

5. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或药品等用途。

=====

