

Mycoplasma Rapid Detection Kit (支原体快速检测试剂盒)

货号: BRK0043

规格: 50 T

◆ 产品简介

支原体快速检测试剂盒是针对细胞培养物支原体污染快速检测的试剂, 使用操作方便快捷, 只需吸取 2 μ l 细胞培养液上清加入到反应体系中, 65°C 孵育 15-20 分钟, 肉眼观察颜色变化即可判定实验结果。同时, 也可使用荧光定量 qPCR 仪得到实时荧光扩增曲线。本产品支原体检测覆盖细胞培养中的常见支原体亚型, 如 *M.hyorhinis*, *M.fementans*, *M.arginina*, *M. orale*, *M.hominis* 等, 具有广泛的兼容性。适合于生物制药企业、疫苗生产企业、单抗生产企业、细胞治疗/胚胎实验室以及科研实验室的日常支原体检测。

◆ 产品组成

产品编号	名称	规格 (50 T)	保存条件
BRK0043-1	1×FR Mix	1.25 ml	-20°C
BRK0043-2	Bst	25 μ l	-20°C
BRK0043-3	MPrimer	50 μ l	-20°C
BRK0043-4	Positive Control Template	20 μ l	-20°C

◆ 保存条件

-20°C 保存, 有效期 12 个月。

◆ 自备材料

金属浴/水浴锅或荧光定量 qPCR 仪

◆ 实验流程

1. 获取细胞培养液上清

贴壁细胞: 直接吸取上清。建议在细胞传代或换液 3 天以上, 并且细胞汇合度达到 90% 左右时取样, 此时上清中支原体含量较高, 便于检出。

悬浮细胞: 500 g 离心 5 min 后, 吸取上清。建议在细胞传代或换液 3 天以上时取样, 此时支原体含量较高, 便于检出。

2. 配制反应体系

待试剂完全解冻后，颠倒混匀。根据待检测样品数量在微量离心管中配制如下反应体系：

组分	体积 (μl)
1×FR Mix	21.5
Bst	0.5
MPrimer	1
细胞培养液上清/Positive Control Template	2

3. 反应检测

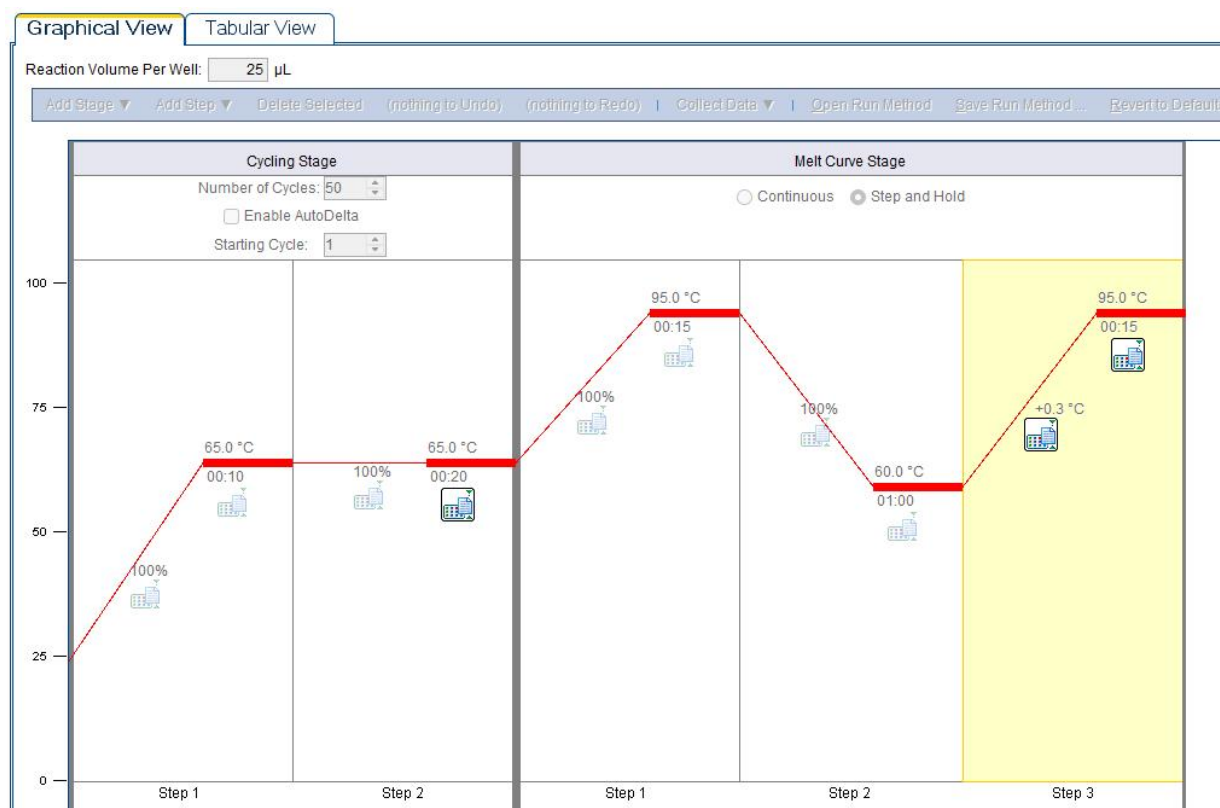
(1) 荧光定量 qPCR 仪检测

Step 1: 65°C, 10s

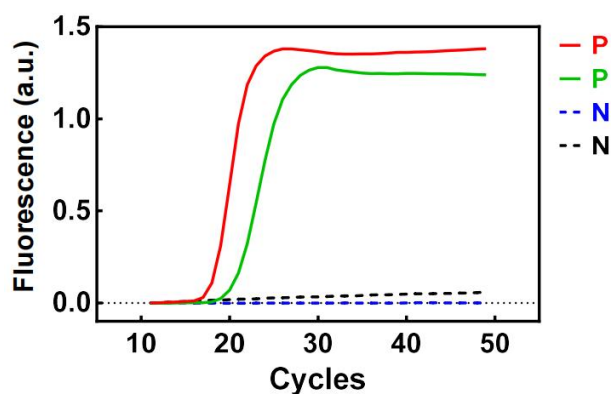
Step 2: 65°C, 20s

Step 1-2 循环 50 次

具体仪器程序设置参数可参考下图（不同品牌的仪器程序设置略有区别，实际以具体仪器型号为准。同时，溶解曲线程序选择仪器自带默认值，不作任何变动）



结果判定：



P 为阳性样品，N 为阴性样品

注：有效的 Ct 值范围在 10-35。一般地，当 CT 值 > 35 时，表明模板浓度极低，未被有效扩增，通常认为细胞的支原体污染情况属于安全范畴。

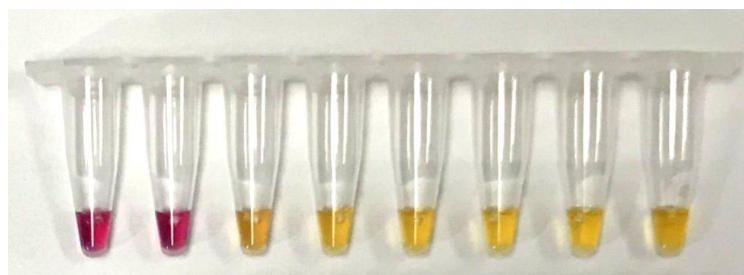
(2) 颜色变化，肉眼观察

金属浴或水浴 65°C，15-20 min，降温至室温后观察实验结果。

反应前



反应后



结果判定：

在一个光线良好的环境中观察反应液颜色（建议以白纸为背景）。如果反应液颜色仍为红色，则判定为支原体阴性；如果反应液颜色变成黄色，则判定为支原体阳性。

◆ 注意事项

1. 实验操作过程中尽量避免说话，戴好口罩，避免唾液中的支原体污染样品造成假阳性。
2. 试剂盒中配备的 Positive Control 操作不慎会对试剂造成污染，非必要请勿使用，若开盖使用时应与试剂配制区域

分开以减少污染几率。

3. 灵敏度：10 copies/μl 极低浓度支原体也能精准检测。
4. 如果出现了荧光或者颜色变色不显著的结果，建议重新制样检测或者使用 PCR 法检测。
5. 若检测发现细胞存在支原体污染，建议直接丢弃，防止污染其它细胞。若细胞样本较为珍贵，可尝试使用 **Mycoplasma Cleaner {支原体清除剂 (1000×)}** (货号：BR00014) 对细胞进行挽救。
6. 荧光检测结果判读在 15 分钟内有效，可视化颜色结果判读在 20 分钟内有效，超过时间可能不准确。