

MycoPCR Assay Kit-支原体 PCR 检测试剂盒

产品信息：

产品名称	MycoPCR Assay Kit
货号	M2305-S/M2305-M/M2305-L
规格	20T/50T/100T
存储条件	4°C, 2 周; -20°C, 1 年;

产品组分：

组分名称	20T	50T	100T
MycoPCR Mix	300μL	800μL	800μL×2
Positive-control	12μL	60μL	130μL

产品介绍：

产品原理：利用灵敏度较高、特异性强的 PCR（即：聚合酶链式反应）技术，对支原体 16SrRNA 基因高度保守区域特异性片段进行扩增检测，可一次性检测多种支原体。

应用范围：对各种生物材料的支原体感染均可进行检测，如：细胞培养基、实验动物分泌物、动物血清等。

本试剂盒根据欧洲药典记载的生物制药生产过程中（参考资料：European pharmacopoeia 7.0,2.6.7.）的支原体检测要求制定而成，相较于传统的支原体检测方法（选择性培养基培养检测方法），本方法具有更高的科学性，更高的灵敏度，及更快的检测速度，同时能完全拒绝传统检测方法带来的二次污染的问题。

使用说明：

1、取细胞上清液 2μL，作为 PCR 模板；注：若为悬浮细胞，须 1000rpm，离心 4min，取上清液

2、反应体系如下：

MycoPCR Mix	15μL
Positive-control, Test Sample or NTC (ddH ₂ O)	2μL
ddH ₂ O	Up to 25μL

3、反应程序如下：

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95°C	3min	1
变性	95°C	15s	25~35
退火	60°C	15s	

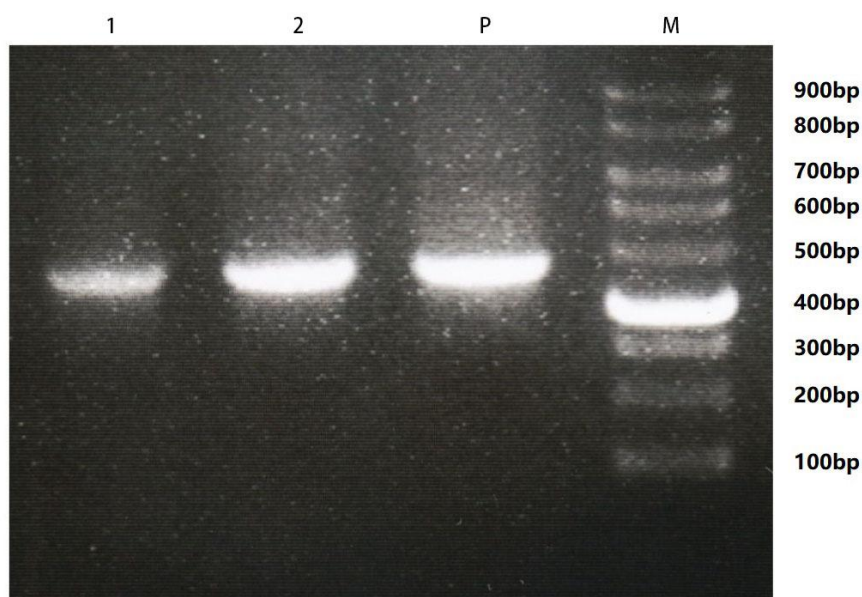
延伸	72℃	15s	
终延伸	72℃	1min	1

4、电泳检测：取 6μLPCR 扩增产物，使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 结果

结果分析：

根据电泳结果，若 PCR 条带在 400~600bp 范围，则可判断为支原体污染，见下图中样品电泳结果参考图。

因不同种类的支原体检测条带大小不同，若要进一步判定支原体种类，可将 PCR 产物进行 TA 克隆、测序。



常见支原体条带大小参考：

支原体名称	中文名称	PCR 条带大小
<i>M. orale</i>	口腔支原体	462 bp
<i>M. hyorhinis</i>	猪鼻支原体	464 bp
<i>A. laidlawii</i>	莱氏无胆甾原体	438 bp
<i>M. salivarium</i>	唾液支原体	466 bp
<i>M. arginini</i>	精氨酸支原体	465 bp
<i>M. fermentans</i>	发酵支原体	461 bp
<i>M. hominis</i>	人型支原体	463 bp
<i>M. pneumoniae</i>	肺炎支原体	470 bp