

M.hyorhinis Assay Kit-猪鼻支原体检测试剂盒

产品信息：

产品名称	M.hyorhinis Assay Kit
货号	M2312-S/M2312-M/M2312-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
M.hyorhinis PCR 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，对猪鼻支原体 16SrRNA 基因高度保守区域特异性片段进行扩增检测。

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。

据研究表明，猪鼻支原体是导致我国生物制品及细胞基质污染中最常见的支原体类型，它在细胞培育环境中生长、增殖较快，极易引起其他细胞资源的交叉污染，污染比例约占所有支原体污染的 20-50%。且由于猪鼻支原体无法在支原体固体培养基上形成可见的菌落，无法通过传统的培养法检测出来。

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，同时能完全杜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：

M.hyorhinis PCR 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℃	3min	1
变性	95℃	15s	25~35
退火	60℃	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 400~500bp 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（猪鼻支原体 PCR 条带大小为 464 bp）。可进一步将 PCR 产物进行 TA 克隆、测序验证。

