

一步法支原体（MYCO）快速检测试剂盒（显色法）

货号：M0056

存储条件：-20℃保存，保存期限为 1 年。

产品简介

支原体（MYCO）快速检测试剂盒（显色法）是基于环介导等温扩增（LAMP）技术开发的快速检测试剂盒，主要针对细胞培养过程中，临床或环境中支原体（MYCO）的检测。经测试，本试剂盒至少可以检测以下 48 种支原体：

<i>M. hyorhinis</i>	<i>M. fermentans</i>	<i>M. arginini</i>	<i>M. hominis</i>	<i>M. orale</i>	<i>M. salivarium</i>
<i>M. pirum</i>	<i>A. laidlawii</i>	<i>M. pneumoniae</i>	<i>M. neophronis</i>	<i>M. sphenisci</i>	<i>M. falconis</i>
<i>M. alkalescens</i>	<i>M. auris</i>	<i>M. anseris</i>	<i>M. leopharyngis</i>	<i>M. amphoriforme</i>	<i>M. arthritidis</i>
<i>M. bovoculi</i>	<i>M. buccale</i>	<i>M. buteonis</i>	<i>M. canadense</i>	<i>M. cloacale</i>	<i>M. corogypsi</i>
<i>M. dispar</i>	<i>M. enhydrae</i>	<i>M. faucium</i>	<i>M. flocculare</i>	<i>M. gateae</i>	<i>M. hyosynoviae</i>
<i>M. hafezii</i>	<i>M. gypis</i>	<i>M. iguanae</i>	<i>M. imitans</i>	<i>M. indienne</i>	<i>M. marinum</i>
<i>M. leonicaptivi</i>	<i>M. miroungirhinis</i>	<i>M. moatsii</i>	<i>M. phocoenae</i>	<i>M. testudinis</i>	<i>M. procyoni</i>
<i>M. seminis</i>	<i>M. struthionis</i>	<i>M. sualvi</i>	<i>M. subdolum</i>	<i>M. testudineum</i>	<i>M. tullyi</i>

其中，前 8 种是最常见的污染细胞的支原体种类。

本试剂盒利用快速可视化颜色判读技术，适用于制药、科研、食品、环境、等企业质控体系中的快速筛查。具有以下优势：

- ① 操作简便，快速出结果：只需水浴锅反应，检测仅需 40 分钟；
- ② 判读简单：通过可视化颜色直观判读；
- ③ 灵敏度高：最低检测下限在 10-100copies/mL；
- ④ 抗干扰能力强：受杂质影响小，因此一般无需额外核酸提取步骤；
- ⑤ 不受 PH 干扰：样本和试剂的 PH 变化不影响检测结果。

产品组分

组分名称	5T	25T	50T
MYCO-Color-Mix	110μL	550μL	1100μL
MYCO-Enzyme	5μL	25μL	50μL
MYCO-阳性参考品	5μL	25μL	50μL
矿物油	100μL	500μL	1000μL

使用说明

1、待测样本准备

方法一：核酸提取后样本：直接作为模板，加入反应体系中。

方法二：未提取样本(浓缩)：取 1500μL 细胞培养液，先 1000rpm 低速离心 5min，将离心后的 1000μL 上清转移到另一个离心管内，丢弃细胞沉淀。再将上清继续 10000rpm 高速离心 5min，小心吸走全部上清（不要碰到底部），用 10-20μL 核酸释放剂或水重悬沉淀（沉淀中含有支原体），涡旋混匀后进行检测。

2、配制反应体系：



配制前试剂必须涡旋混匀再离心，切勿剧烈振荡。每次反应需设置 1 个阴性对照和 1 个阳性对照，为避免移液误差，建议按照实际反应数 1.05 倍配制反应体系。

成分	单个反应体积 (μL)
MYCO-Color-Mix	22
MYCO-Enzyme	1

3、加样

将配好的反应体系吹吸均匀，每管 23μL 分装到反应管中，向待测管中加入 2μL 待测样品，向阴性对照管中加入 2μL 去离子水，向阳性对照管加入 2μL 阳性参考品。在放入水浴锅之前，须向反应管中滴加 20μL 的矿物油以防止液体蒸发。加样后离心混匀。

反应条件

将水浴锅温度设置成 65℃，放入反应管，孵育 40min。若 40min 后阴阳颜色区分很明显，不得继续反应，否则容易出现假阳性。若 40min 后阴阳颜色区别不明显，可适当继续反应 1-5min。

4、结果判读

颜色判读：取出反应管，放于室温，在光线良好的环境中观察反应结果，如果反应液为粉红色，则判定为阴性；若反应液为黄色，则判定为阳性。颜色变化反应如下：



阳性



阴性

注意事项

- 1、建议使用水浴锅和导热良好的 PCR 反应管进行检测。
- 2、不建议使用金属浴或 PCR 仪器等进行反应，因不同的设备的加热速率差别较大，造成试剂的变色时间存在较大差异，若未及时观测结果，容易造成假阳性。
- 3、建议使用 0.2mL 的 PCR 管，若使用 0.6mL 或 1.5mL 的离心管，因内直径变大需要适当增加石蜡油来保证全面密封反应体系；同时因管壁厚度增加了，需要适度增加反应时间来保证反应的充分完成。
- 4、金属离子螯合剂会影响反应进行，因此样本中的 EDTA 等只能微量存在或尽量不存在。
- 5、如果反应后颜色介于阴性和阳性之间，应重复实验，或者与其他检测方法进行比较。
- 6、为了您的安全和健康和避免交叉污染，操作时请佩戴手套。
- 7、试剂盒 -20℃ 保存，避免反复冻融（有效期 12 个月），解冻后需彻底混匀。
- 8、建议实验操作涉及的仪器和设备需要定期校准，特别是移液器和水浴锅，对反应快慢的准确性影响很大。
- 9、建议配置完反应体系后先加阴性对照和待测样本，石蜡油液封后，再添加阳性对照质粒样本，石蜡液封后，放入水浴锅进行反应。且接触过阳性对照的枪头建议弃置于可密封的废液桶内并及时清理。从而避免阳性对照质粒照成污染。
- 10、本试剂盒属反应超高灵敏度的检测，反应过程中及反应完成后请勿打开 PCR 管盖，等温扩增产物宜密封后按扩增后产物要求处理，以避免超高浓度的扩增产物由于气溶胶等因素污染实验环境。
- 11、要保证本实验的操作环境没有支原体或其核酸污染，否则极易造成假阳性结果。
- 12、必须确保使用的移液枪本身没有残留的支原体。因此，最好使用全新购买的移液枪。如果没有新购买的移液枪，至少应该使用以前没





兰博利德 LABLEAD
高新技术企业

有进行过细胞培养的移液枪。因为进行过细胞培养的移液枪极有可能被含支原体的培养液污染（如细胞培养时，不小心将含支原体污染的培养液吸入移液枪的枪体内）。移液枪中吸附的支原体有可能造成不必要的假阳性。

13、强烈建议使用滤芯吸头（比如 Axygen 滤芯吸头）吸取相关溶液和阳性支原体等。如果没有滤芯吸头，至少应该使用新开封的吸头。

14、本试剂盒仅供科研使用。

