

TransDetect® Luciferase Mycoplasma Detection Kit

发光法支原体检测试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FM301

版本号: Version 4.0

保存: 试剂盒于-18℃及其以下温度避光保存一年。配制好的支原体检测反应液 (MycoDetect Reagent) 和底物 (MycoDetect Substrate) -70℃及其以下温度下保存六个月, -18℃及其以下温度下保存一个月, 2-8℃温度下保存一周。

产品说明

本产品利用支原体中所特有的酶设计而成, 该酶分解MycoDetect Substrate的同时将 ADP 转换成 ATP, 荧光素酶在ATP存在的条件下催化荧光素 (luciferin) 氧化发出生物荧光, 通过检测生物荧光可以表征细胞培养物是否存在支原体污染。该方法灵敏度高、操作简便、省时, 由于检测的是真正具有生物活性的支原体, 所以得到的结果比PCR检测方法更加准确。

试剂盒组成

Component	FM301-01 (25 rxns)	FM301-02 (50 rxns)	FM301-03 (200 rxns)
MycoDetect Reagent (lyophilized)	1 Vial	2 Vials	2 Vials
MycoDetect Substrate (lyophilized)	1 Vial	2 Vials	2 Vials
TransDetect® Luciferase Mycoplasma Detection Positive Control	250 µl	500 µl	4×500 µl
MycoDetect Buffer	2.8 ml	5.6 ml	4×5.6 ml

操作步骤

1、试剂配制

- (1) FM301-01(25 rxns)与FM301-02(50 rxns): 在MycoDetect Reagent和MycoDetect Substrate瓶中分别加入1.4 ml在室温完全融化的MycoDetect Buffer, 上下颠倒混匀使干粉完全溶解。
- (2) FM301-03(200 rxns): 取两瓶在室温完全融化的MycoDetect Buffer分别直接倾倒进MycoDetect Reagent和MycoDetect Substrate瓶中, 上下颠倒混匀使干粉完全溶解。

注: 为了增加检测结果的准确性, MycoDetect Reagent和 MycoDetect Substrate 最好现用现配, 如果溶解后一次用不完, 建议-18℃及其以下温度保存。

- (3) 为避免反复冻融, 可将阳性对照试剂TransDetect® Luciferase Mycoplasma Detection Positive Control进行分装, 并于-18℃及其以下温度保存。

2、收集细胞培养液

待测细胞培养 24 小时以上, 收集细胞培养液, 400×g 离心 3分钟, 取上清立即检测或者放置在 2-8℃, 在一周之内检测, 避免冻融收集的细胞培养液。

注: 为了使检测结果更加准确, 建议取样时细胞的汇合度在 80% 以上。

3、检测 (以下操作需要避光)

- (1) 将配制好的 MycoDetect Reagent、MycoDetect Substrate、阳性对照试剂和待检测的细胞培养液平衡至室温。
- (2) 于1.5 ml 离心管或者96孔板中加入50 µl待检测细胞培养液、阳性对照、阴性对照 (无菌水、PBS或新鲜培养液)。推荐每次检测设置一个阳性对照。
- (3) 向上述板孔中加入50 µl MycoDetect Reagent, 用移液枪混匀后室温反应 5-10 分钟。

注: 用移液枪轻柔混匀, 尽量不要产生大气泡, 管或孔边缘的少量小气泡不会影响检测结果的准确性。



(4) 于化学发光仪 (luminometer) 中读取发光值, 记为数据 A。

(5) 向步骤 (3) 的反应体系中加入 50 μ l MycoDetect Substrate, 用移液枪混匀后室温反应 10-15 分钟。

注: 用移液枪轻轻混匀, 尽量不产生大气泡, 管或孔边缘的少量小气泡不会影响检测结果的准确性。

(6) 于化学发光仪 (luminometer) 中读取发光值, 记为数据 B。

(7) 数据分析: 阳性对照试剂: 如果 $B/A \geq 5$, 则此次实验结果可信; 如果 $B/A < 5$, 则检测试剂盒活性降低, 结果不可信。待测样品: 如果 $B/A \geq 1.2$, 说明细胞培养物中存在支原体污染; 如果 $B/A \leq 1.0$, 说明细胞培养物中没有支原体污染; 如果 B/A 在 1.0-1.2 之间, 建议继续培养细胞 24-48 小时, 再一次检测是否存在支原体污染, 如果 B/A 仍在 1.0-1.2 之间, 则该细胞培养物为支原体阴性。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V4.0-202608

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

