

TransDetect® Direct qPCR Mycoplasma Detection Kit 直扩法支原体检测试剂盒 (qPCR法)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FM331

版本号: Version 1.0

保存: -18°C及其以下温度下避光保存两年

产品说明

本产品采用TaqMan实时荧光定量PCR法检测支原体DNA, 用于定性检测支原体污染。可检测的支原体种类涵盖范围广, 包括柔膜菌纲 (*Mollicutes*) 下的多种支原体 (*Mycoplasma spp.*)、无胆甾原体 (*Acholeplasma spp.*)、螺原体 (*Spiroplasma spp.*) 等。

本试剂盒中的TransDetect® qPCR Mycoplasma SuperMix II组分包含Taq热启动酶、针对支原体检测特殊优化的qPCR反应缓冲液、dNTPs、PCR增强剂、稳定剂。此外, 本反应液引入了dUTP/UDG系统, 可在反应前降解含U的ssDNA和dsDNA, 消除由PCR产物导致的交叉污染。Myco Primer&Probe Mix II为扩增支原体序列和扩增Myco Internal Control Template II的引物、探针。FAM通道检测支原体特异性扩增; ROX通道检测Myco Internal Control Template II的扩增。本品可直接用于检测细胞上清液, 细胞培养基和血清等。

特点

- 灵敏度高、支原体种类覆盖范围广、耐用性优、特异性优。
- 本品包含dUTP/UDG防污染系统, 有效防止PCR产物的交叉污染, 数据准确。

试剂盒组成

Component	FM331-01 (50 rxns)	FM331-02 (100 rxns)
TransDetect® qPCR Mycoplasma SuperMix II	750 µl	2×750 µl
Myco Primer&Probe Mix II	250 µl	500 µl
Myco Internal Control Template II	50 µl	100 µl
Myco Positive Control Template IV	100 µl	200 µl
MycoFree Water	500 µl	1000 µl

qPCR检测

1. qPCR预混液28 µl配制 (在试剂准备区):

取出试剂盒中的各组分, 待平衡至室温, 混匀后使用, 以下体系为单个反应孔用量。

Component	Volume
TransDetect® qPCR Mycoplasma SuperMix II	15 µl
Myco Primer&Probe Mix II	5 µl
Myco Internal Control Template II	1 µl
MycoFree Water	7 µl

2. 加样 (在样品处理区):

加入样本后, 振荡混匀, 瞬时离心。

样本类型	加样体积
阳性对照	28 µl qPCR预混液+2 µl Myco Positive Control Template IV
阴性对照 (NTC)	28 µl qPCR预混液+2 µl MycoFree Water
待测样品	28 µl qPCR预混液+2 µl待测样品



3. qPCR扩增（在扩增区与分析区进行）

将PCR反应管放入扩增仪样品槽，按照对应的顺序设置阴性对照（NTC）、阳性对照、待测样品。读取FAM通道和ROX通道，反应体积设置为30 μ l，反应程序为：

温度	时间	循环数
95°C	5 min	1
95°C	5 sec	45
62°C	30 sec (信号采集)	

结果分析

阳性对照和阴性对照（NTC）的扩增结果需满足下表

样品	FAM通道	ROX通道
阳性对照	Ct < 40	Ct < 40
NTC对照	Ct $\geq$ 40	Ct < 40

按照下表进行待测样品的结果判定

FAM通道	ROX通道	结果判定
Ct < 40	Ct < 40	支原体阳性
Ct < 40	Ct $\geq$ 40	存在PCR抑制成分
Ct $\geq$ 40	Ct < 40	支原体阴性
Ct $\geq$ 40	Ct $\geq$ 40	存在PCR抑制成分

ROX信号如果有抑制，需重测或对样品进行合适处理消除抑制因子。

注意事项

- 使用时彻底化冻、混匀。
- 本产品仅用于科研使用，使用前请仔细阅读本说明书。
- 实验前请熟悉和掌握需使用的各种仪器的操作方法和注意事项，对每次实验进行质量控制。
- 实验室管理需严格遵照PCR基因扩增实验室的管理规范，实验人员必须进行专业培训，实验过程严格分区进行，所有消耗品仅作一次性使用，实验操作的每个阶段使用专用仪器和设备，各区各阶段用品不可交叉使用。样品操作、废弃物处理应符合相关法规要求。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202507

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

