

支原体快速检测试剂盒 (LAMP)
说明书

名称	支原体快速检测试剂盒 (LAMP)
英文	Quick mycoplasma detection kit by LAMP
货号	CSP218
规格	50T
保存	-20°C保存12个月
用途	仅供科研使用

【产品描述】

支原体快速检测试剂盒 (Quick mycoplasma detection kit by LAMP) 是一款用于快速检测细胞培养物中支原体污染的试剂盒。适用于多种细胞类型如悬浮、贴壁细胞, 包括常见肿瘤、免疫、原代、干细胞等的检测; 可应用于生物医药、疫苗、干细胞等企业以及常规科研实验室中快速检查是否有支原体污染的情况。本产品经验证能够检测多种支原体类型, 包括95%以上的支原体污染源: *Mycoplasma arginini*、*Mycoplasma orale*、*Mycoplasma fermentans*、*Mycoplasma hominis*、*Mycoplasma hyorhinis* 等。

【产品组分】

组分编号	组分名称	50T
CSP218-A	Detection Buffer	900 μ L
CSP218-B	Detection Enzyme Mix	50 μ L
CSP218-C	阳性对照	25 μ L

【产品特点】

- 基于等温扩增技术, 使用简便快捷, 只需65°C孵育1h, 即可通过肉眼观察颜色变化判断结果;
- 不需要复杂仪器, 可通过多种途径即水浴锅/金属浴/PCR仪等轻松完成实验 (**建议使用PCR仪**);
- 性能稳定, 耐抑制能力强, 经大量验证不会出现假阳性;
- 结果判断无需开盖, 能够避免核酸气溶胶污染;

【使用说明】

操作前注意事项

1. 如果每次实验用量较少, 建议分装保存, 避免反复冻融和试剂污染;
2. 实验后, 注意拧紧试剂管盖, 避免污染;
3. 请在洁净环境下配制试剂; 操作人员需要具备良好的无菌操作技能, 防止处理过程中引入其他污染;
4. 本产品仅供科学研究使用, 不得用于临床医学诊断及其他非合理用途;
5. 为了您的安全与健康, 请穿实验服并戴一次性手套进行实验操作。

操作步骤

1. 样品处理

通常当细胞达到下次传代或换液时，即可吸取上清进行检测。若细胞传代周期短，建议分瓶，1瓶用于正常细胞培养，另外1瓶不传代不换液，培养细胞至3天以上，此时支原体含量较高，便于检出。贴壁细胞建议汇合度达到90%左右。

贴壁细胞取样: 直接吸取上清;

悬浮细胞取样: 直接吸取细胞悬液。

2. 反应体系配制

将本产品从 -20°C 储存条件下拿出，恢复至室温，混匀后离心。根据实验样品(包括Positive Control, PC; Negative Control, NC; 待测样品unk.)数量配制反应体系，每管分装 $19\ \mu\text{L}$ ：

组分名称	反应体积 (1T) (μL)	反应体积 (nT) (μL)
Detection Buffer	18	$18 \times (n+1)$
Detection Enzyme	1	$1 \times (n+1)$

【注意】: “n” 是实验样品数量。

3. 加样

向分装好的 $19\ \mu\text{L}$ 反应体系中加入样品：

样品名称	加样
Negative Control (NC)	$0\ \mu\text{L}$ 或 $1\ \mu\text{L}$ Nuclease-free ddH ₂ O
unk.	$1\ \mu\text{L}$ 待测培养液上清
Positive Control (PC)	$1\ \mu\text{L}$ 阳性对照

加入样品后，混匀离心。在 PCR 仪中反应，反应程序中设置热盖 105°C 。

4. 反应

将仪器温度设置成 65°C ，放入反应管，孵育 60 min。

可选步骤:在 65°C 反应结束后，增加 85°C 5min，以灭活Bst DNA聚合酶，减少气溶胶污染的可能性。

5. 结果判断

反应结束后，立即拿出，在光线良好的条件下观察管子颜色。优先观察Negative Control (NC)和 Positive Control (PC)的颜色，若颜色不正确，则需要查找原因后确定下一步计划。

紫色:阴性

蓝色:阳性

【注意】: 1. 如果颜色介于紫色和蓝色之间，可以将反应管继续 65°C 条件下延长总反应时间至 $75\sim 90$ mins。若依然为中间色，则判断阴性；若颜色完全变为蓝色，则判为阳性。

2. Lamp 反应会产生大量的核酸，请勿在反应结束后打开管盖，避免气溶胶的污染。