



# MycoTest Kit 说明书

## (支原体检测试剂盒)

### 产品简介：

MycoTest Kit 是利用降落聚合酶链式反应技术 (TD-PCR) 对支原体 16S rRNA 基因高度保守区域特异性片段进行扩增检测。该方法灵敏度高，特异性强，可用于各种生物材料（如细胞培养基、实验动物分泌物、动物血清等）支原体感染的检测。

MycoTest Kit 中所含的 Mix 能特异性扩增多种支原体 16S rRNA 基因片段，可以达到一次性检测多种支原体的目的。本试剂盒根据欧洲药典中对于生物制药生产过程中（参考资料：European pharmacopoeia 7.0, 2.6.7.），对于支原体的检测要求定制而成，与传统的选择性培养基培养检测方法相比较，本方法更为快速，具有高灵敏性，高特异性和高性价比。不会由于培养法检测时大量培养支原体可能带来的次级污染的问题。

### 产品规格：

组分/货号	FH8001( 50 rxns)	FH8001 ( 20 rxns)
Mix	3*500 $\mu$ L	600 $\mu$ L
Positive	60 $\mu$ L	22 $\mu$ L

### 常见支原体种类：

支原体种类	中文名称	PCR 条带大小
<i>M. orale</i>	口腔支原体	462 bp
<i>M. hyorhinis</i>	猪鼻支原体	464 bp
<i>A. laidlawii</i>	莱氏无胆甾原体	438 bp
<i>M. salivarium</i>	唾液支原体	466 bp
<i>M. arginini</i>	精氨酸支原体	465 bp
<i>M. fermentans</i>	发酵支原体	461 bp
<i>M. hominis</i>	人型支原体	463 bp
<i>M. pneumoniae</i>	肺炎支原体	470 bp

### 运输方式：

4℃

### 储存条件及有效期：

4℃，1 个月；-20℃，18 个月。



**操作步骤：**

- 待检样品，直接取 2  $\mu$ L 上清液作为 PCR 模板；  
(注：悬浮细胞需要 1000 rpm 离心 4 min)
- 反应体系配置：

无菌水	19 $\mu$ L
Mix	29 $\mu$ L
样品/对照	2 $\mu$ L

**3. PCR 反应程序：**

94 $^{\circ}$ C	90 s	} 20 cycles (每 2 个循环降 1 $^{\circ}$ C, 或者每 1 个循环降 0.5 $^{\circ}$ C。)	
94 $^{\circ}$ C	30 s		
70-61 $^{\circ}$ C	30 s		
72 $^{\circ}$ C	45 s		
94 $^{\circ}$ C	30 s		} 20 个循环
60 $^{\circ}$ C	30 s		
72 $^{\circ}$ C	45 s		
72 $^{\circ}$ C	4 min		

- 取 5ul PCR 扩增产物，使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 结果。

**结果分析：**

不同种类的支原体检测条带大小不同，下图列出了引起细胞污染的 8 大种类常见支原体，若 PCR 条带在 400bp~600bp 范围内，均可判断为支原体污染。

也可将 PCR 产物进行 TA 克隆、测序进一步鉴定支原体的种类。

