

产品名称	支原体化学发光检测试剂盒（低灵敏度）
货号	SNCD-002
规格	20次/100次
简介	<p>支原体（Mycoplasma）别名霉形体，直径 0.1-0.3<math>\mu</math>m，具有高度多样性，是一种没有细胞壁、可以用人工培养基培养增殖的最小的原核生物。其广泛存在于人和动物体内，大多数不致病。由于其广泛存在，外加体积较小可以通过滤膜混入细胞培养体系，也很难通过普通光镜观察到，普通抗生素对其也没有有效的抑制作用，因此成为细胞培养中比较常见而且难以检测清除的污染。</p> <p>支原体污染对细胞会有多方面的影响，包括以下方面：1.细胞生长速度改变；2.细胞形态、状态改变；3.细胞染色体异常、突变甚至功能改变；4.细胞对环境冲击耐受力降低；5.相关细胞实验获得的数据异常等。可以说对细胞及细胞相关实验有极其严重的影响，因此检测及清除广泛存在的支原体污染成为诸多实验室必须要经历的过程。</p> <p>支原体污染无法通过肉眼或者普通光镜直接判断，只能通过各种试剂、仪器检测。支原体常规检测方法有：荧光法、培养法、电镜法、常规 PCR 法、一步 PCR 法、化学发光法等，不同检测方法能够检测的支原体种类不同，其检测灵敏度、特异性、便捷性也有各自的特点。</p> <p>本公司生产的支原体化学发光检测试剂盒采用支原体特有酶检测法，通过裂解支原体，释放特有酶催化合成 ATP，生产的 ATP 与试剂中的荧光素酶发生反应，通过比较反应前后荧光量变化确定样品中是否含有支原体污染。该试剂盒可以有效、快速、灵敏的检测支原体污染，只需要少量样品即可检测支原体污染情况。</p>
使用方法	<p><b>1. 客户需要自备的试剂、仪器</b></p> <p>&lt;1&gt;待检测样品：细胞上清、血清或者培养基。</p> <p>细胞上清建议使用培养细胞 3-5 天的上清，培养时间过短的上清支原体含量较低可能无法有效检出，血清或者培养基也应在培养箱静置培养 1-2 天</p>

使支原体有一定程度增殖再用于检测。

## <2> 必备仪器、试剂

a. 化学发光相关：化学发光检测仪或可以检测化学发光的酶标仪、化学发光专用 96 孔板（建议使用白板，使用透明板可能因相邻孔光量影响导致读数严重不准）

b. 通用：移液器、无菌 Tip 头、离心管、双蒸水等

## 2. 实验步骤

a. 取 1mL 培养 3-5 天的细胞上清，200g 或者 1500rpm，离心 5 分钟，取离心后的上清。

b. 根据待检测的样品、阴性对照和阳性对照的数量，取出试剂盒，放室温 1-5min(注意:不能加热融化)，待其融化立即后放冰上待用。

c. 在化学发光专用检测白板各孔中分别加入 50 $\mu$ L 待检样品、阴性对照、阳性对照（阳性对照按 10 $\mu$ L 添加，补加 40 $\mu$ L 双蒸水）；

d. 在各孔中分别加入 50 $\mu$ L 试剂 A，混匀后 20-25 $^{\circ}$ C 静置 5min，用化学发光检测仪检测读数，检测结果即为反应前的读数 A；

注：采用仪器默认的萤火虫荧光素酶(Luciferase)的发光检测参数进行检测即可。

e. 在各孔中再分别加入 50 $\mu$ L 试剂 B，混匀后 20-25 $^{\circ}$ C 静置 10min，再用化学发光检测仪检测读数，检测结果即为反应后的读数 B；

f. 计算反应前后读数比值 (Ratio) = 读数 B/读数 A，具体比值结果分析参考下图；

B/A Ratio	结果判定	处理方法
<0.9	阴性	正常培养，定期检测预防污染
0.9-1.2	临界值，无法判定	培养48h后再取样检测
>1.2	阳性	样品处理后丢弃或单独培养并用专用支原体清除剂处理，定期复检

产品组分	<b>试剂名称</b>	<b>20次</b>	<b>100次</b>
	试剂A	1mL	5mL
	试剂B	1mL	5mL
	阳性对照	200uL	1mL
存储条件	-20℃（避免反复冻融）		
保质期	-20℃一年（避免反复冻融）		
注意事项：			
1. 检测时，使用化学发光模块即可，波长一般采用默认设置模式，不需要设置，但也根据仪器情况，如有的仪器设置 562nm。			
2. 此产品可以检测出常见的的大部分支原体污染，不能检测确定出具体支原体污染种类。			
3. 由于不同型号检测仪器的灵敏度差异，检测数值可能会差别大			
4. 该产品仅供科研使用，不得用于诊断或临床实验。			

注意事项:

- 1.该产品-20 度可以保存一年以上，但反复冻融或保存不当可能会导致荧光素酶或阳性对照失效，如需多次使用，建议小量分装，分装时避免外源污染。
- 2.使用前应将各试剂、样品复温至 20-25℃再使用，否则可能会影响实验效果。
3. 操作时戴好手套，避免外源污染。
4. 检测细胞上清时，应离心去除细胞，避免细胞内 ATP 影响实验结果造成读数偏高。
5. 该产品仅供科研使用，不得用于诊断或临床实验。