

## 支原体 PCR 检测试剂盒

Cat #: BMC1040

Size: 200 T/1000 T

|                                                                                   |                              |                                                                                   |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
|  | 支原体 PCR 检测试剂盒                |                                                                                   |           |
|  | 货号: BMC1040                  |  | 批号: 见产品标签 |
|                                                                                   | 适用样本: 细胞培养上清、实验动物分泌物、血清等生物材料 |                                                                                   |           |
|  | 保质期: -20°C 保存 12 个月          |                                                                                   |           |

## 原理

本支原体 PCR 检测试剂盒是利用巢式聚合酶链式反应技术 (Nested PCR) 对支原体 16S-23S rRNA 序列保守区域特异性片段进行扩增检测, 可以直接用于细胞培养上清、实验动物分泌物、血清等生物材料样本进行快速检测, 可快速、高效、高灵敏度地检测有无支原体污染。

## 包装清单

| 试剂盒组分                     | 规格     |        | 储存条件  |
|---------------------------|--------|--------|-------|
|                           | 200 T  | 1000 T |       |
| 1st PCR Primer Mix (25×)  | 200 µL | 1 mL   | -20°C |
| 2nd PCR Primer Mix (25×)  | 200 µL | 1 mL   | -20°C |
| Positive Control Template | 100 µL | 500 µL | -20°C |

## 自备耗材

- PCR 管、可调节式移液枪及枪头
- 离心机、PCR 仪、水平电泳仪
- 2×PCR Mix、琼脂糖、DNA Marker
- 灭菌水

## 实验步骤

### A. 1st PCR 反应

1. 融解并混匀 PCR 反应所需的各种溶液, 参考下表在冰浴上设置 PCR 反应:

| 试剂                        | 测定      | 阴性对照    | 阳性对照    |
|---------------------------|---------|---------|---------|
| 2×PCR Mix                 | 12.5 μL | 12.5 μL | 12.5 μL |
| 1st PCR Primer Mix (25×)  | 1 μL    | 1 μL    | 1 μL    |
| 无菌水                       | 9.5 μL  | 11.5 μL | 9.5 μL  |
| 样品                        | 2 μL    | /       | /       |
| Positive Control Template | /       | /       | 2 μL    |
| 总体积                       | 25 μL   | 25 μL   | 25 μL   |

注意：为防止 **Positive Control Template** 污染，需在测定组及阴性对照组加完样后，再将 **Positive Control Template** 加入阳性对照组。

2. 按以下条件进行 PCR：

|     |         |               |
|-----|---------|---------------|
| 94℃ | 5 min   | } 30-35cycles |
| 94℃ | 30 s    |               |
| 56℃ | 30 s    |               |
| 72℃ | 1 min   |               |
| 72℃ | 5 min   |               |
| 4℃  | Forever |               |

**B. 2nd PCR 反应**

1. 参考下表在冰浴上设置 PCR 反应：

| 试剂                       | 测定      | 阴性对照    | 阳性对照    |
|--------------------------|---------|---------|---------|
| 2×PCR Mix                | 12.5 μL | 12.5 μL | 12.5 μL |
| 2nd PCR Primer Mix (25×) | 1 μL    | 1 μL    | 1 μL    |
| 无菌水                      | 11 μL   | 11 μL   | 11 μL   |
| 1st PCR 产物               | 0.5 μL  | 0.5 μL  | 0.5 μL  |
| 总体积                      | 25 μL   | 25 μL   | 25 μL   |

2. 按以下条件进行 PCR：

|     |         |                |
|-----|---------|----------------|
| 94℃ | 5 min   | } 30-35 cycles |
| 94℃ | 30 s    |                |
| 56℃ | 30 s    |                |
| 72℃ | 1 min   |                |
| 72℃ | 5 min   |                |
| 4℃  | Forever |                |

3. 反应结束后，取 1st 和 2nd PCR 反应产物各 7 μL 直接进行 1-2%琼脂糖凝胶电泳分析，如果只是确定是否有支原体污染，1-2%的琼脂糖凝胶电泳均可，如需通过 PCR 产物片段大小大致推测污染支原体的种类，则推荐使用 2%的琼脂糖凝胶电泳。



结果展示

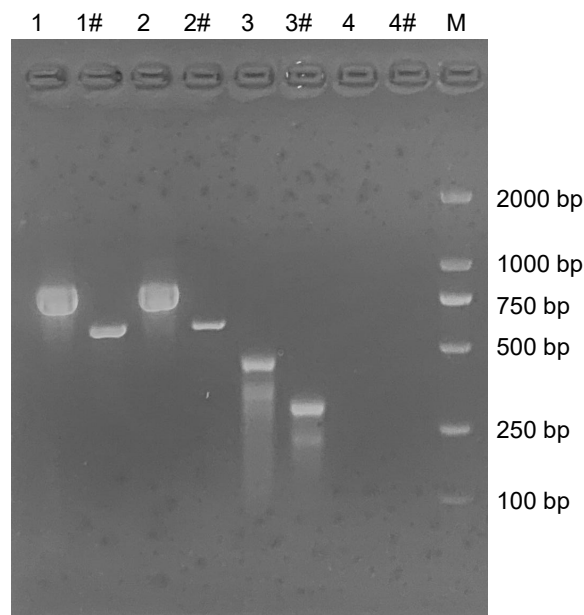


图 1.使用本支原体 PCR 检测试剂盒 PCR 检测扩增产物的琼脂糖凝胶电泳示意图  
1、2、3、4 是 1st PCR 产物；1#、2#、3#、4#是相应的 2nd PCR 产物。各泳道的模板分别是：1 和 1#，Positive Control Template；2 和 2#，Positive Control Template 1:10 稀释；3 和 3#，支原体污染细胞上清；4 和 4#，灭菌水。M 为 DNA marker。  
注意：巢式 PCR 2nd PCR 反应产物琼脂糖凝胶电泳有杂带属于正常现象。

表 1. 常见支原体种类及 1st PCR 和 2nd PCR 扩增产物长度参考表

| 种属                              | 1st PCR (bp) | 2nd PCR (bp) |
|---------------------------------|--------------|--------------|
| Positive Control Template       | 820          | 599          |
| <i>Mycoplasma arginini</i>      | 370          | 145          |
| <i>Mycoplasma arthritidis</i>   | 408          | 157          |
| <i>Mycoplasma capricolum</i>    | 415          | 221          |
| <i>Mycoplasma fermentans</i>    | 492          | 195          |
| <i>Mycoplasma hominis</i>       | 370          | 148          |
| <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> | 682          | 238          |
| <i>Mycoplasma hyorhinis</i>     | 452          | 211          |
| <i>Mycoplasma neurolyticum</i>  | 502          | 196          |
| <i>Mycoplasma orale</i>         | 424          | 179          |
| <i>Mycoplasma pulmonis</i>      | 477          | 190          |
| <i>Mycoplasma salivarium</i>    | 403          | 151          |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i>   | 482          | 154          |

免责声明

本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

