



产品使用说明书

Rhinogen[®] Myco-Visal[™]

一步法快速支原体检测试剂盒

货号：RA-MT03



目 录

目 录	1
产品信息	2
试剂包装	2
保藏条件	2
产品综述	3
背景	3
概述	3
特性	3
操作方法	4
获得细胞培养液上清	4
配制反应体系	4
加样品至检测体系中	4
加矿物油	4
反应	4
结果判定	4
相关产品	6
联系我们	7

产品信息

试剂包装 Rhinogen[®] Myco-Visal[™]一步法快速支原体检测试剂盒包装规格如下：

试剂组分	货号	规格	
		20 tests	50 tests
Myco-Visal [™] 检测缓冲液	RA-MT03A	530μl	2×530μl
Myco-Visal [™] 检测酶（冻干球）	RA-MT03B	25 个	50 个
阳性对照	RA-MT03C	10μl	25μl
矿物油	RA-MT03D	630μl	2×630μl

保藏条件 可在 4°C或-20°C（为宜）长期保存。短期可在 40°C以内运输。试剂使用前请恢复至室温（18°C-22°C），并在复溶后置室温使用。为了保证产品稳定性，复溶后的试剂请立即使用。避免试剂反复冻融。其中冻干球请尽快使用。

产品综述

背景

支原体（Mycoplasma）是对支原体科、无胆甾原体科和螺原体科的原核微生物总称，是已知可以自由生活的最小生物，没有细胞壁，形状多样可变，直径一般是 0.1~0.3 μm ，基因组 A-T 含量高，对常见的抗生素不敏感，对热敏感。目前已从污水、植物、动物、禽类、昆虫、人、温泉或其他高温环境中发现 200 种左右支原体。

细胞如果受到支原体污染，细胞生长速度变慢，细胞产生病变或形态改变。连续培养细胞污染的概率大约 15~35%，主要来源于 20 多种支原体，包括口腔支原体（*M. orale*）、肺炎支原体（*M. pneumoniae*）、发酵支原体（*M. fermentans*）、精氨酸支原体（*M. arginini*）、莱氏无胆甾原体（*A. laidlawii*）和猪鼻支原体（*M. hyorhinis*）。

人员操作、污染的细胞、原辅料（血清、胰酶、培养基），实验环境污染（生物安全柜、细胞间，培养箱）、实验仪器（水浴锅、液氮罐）、实验耗材（培养皿、方瓶、细胞工厂）都可能是污染源。污染了的细胞一方面对生产带来巨大影响，另外如果细胞产品、蛋白产品、病毒类产品受到支原体污染，最终会给患者带来潜在的健康风险。因此，监管部门要求企业对细胞库，检定用细胞和产品进行支原体检测，从源头上进行控制，尽早发现，确保放行产品不含支原体。对此，全球各国药物监管部门也发布了支原体检测相关指南，检测方法主要包括 POCT 法、荧光染色法、培养法、核酸扩增等检测方法。

概述

Myc-Visal™ 一步法快速支原体检测试剂盒是针对细胞培养物支原体污染快速检测的试剂，使用简单便捷，只需吸取 1 μl 细胞培养液上清加入反应体系中，65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 小时，肉眼观察即可判定结果。无需 PCR/qPCR 仪，无需电泳，在细胞房内即可轻松完成。检测结果与目前最灵敏、最准确的 qPCR 法具有极高的一致性。本试剂盒可以检测多达 28 种支原体，其中包括细胞培养常见的 8 种支原体；适用于各种悬浮、贴壁培养细胞，包括 CHO、Vero、杂交瘤、Sf9、293 等，且具有广泛的培养基兼容性，因此非常适合于生物制药企业、疫苗生产企业、单抗生产企业、细胞治疗/胚胎实验室以及科研实验室的日常支原体检测。

特性

- ✓ **操作简单：** 仅需 60min 即可检测细胞培养中是否有支原体污染；
 - ✓ **特异性高：** 不会受到细菌、真菌、酵母的干扰；
 - ✓ **污染性低：** 反应是在管内进行，反应后无需开盖进行检测，降低污染风险；
 - ✓ **检测灵敏度高：** 能检测至少 500cfu 的支原体，与 qPCR 法相当。
-

操作方法

- 获得细胞培养液上清**
- ✓ 悬浮细胞：500g 离心 5 min 后，吸取上清。建议在细胞传代或换液 3 天以上时取样，此时支原体含量较高，便于检出。
 - ✓ 贴壁细胞：直接吸取上清。建议在细胞传代或换液 3 天以上，且汇合度达到 90% 左右时取样，此时上清中支原体含量较高，便于检出。

- 配制反应体系**
- ✓ 将支原体检测缓冲液从 -20°C 条件下取出，待解冻后，颠倒混匀。根据待检样品数量在微量离心管种配制如下反应体系：

组分	单个样品加样设计
支原体检测缓冲液	21 μ l
支原体检测酶（冻干球）	1 支

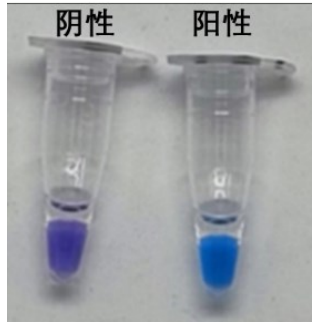
- 注意：1) 冻干球复溶后用移液器轻轻吹打混匀；
2) 每次实验都需要添加一组阳性对照及一组阴性对照。

- 加样品至检测体系中**
- ✓ 样品：向反应管中加入 1 μ l 待测培养液上清；
 - ✓ 阳性对照：加入 1 μ l 阳性对照；
 - ✓ 阴性对照：加入 1 μ l 无核酸酶的无菌水。
- 注意：1) 反应管中加入样品及对照后，用移液器吹打混匀；
2) 将阳性对照放置最后一管操作，降低假阳性出现的风险。

- 加矿物油**
- 在各反应管中加入 25 μ l 矿物油，以防止液体蒸发导致结果不准确。
- 注意：1) 加入矿物油之后，将反应管 500g 瞬离一下，确保液体集中于管底；
2) 加入矿物油时请注意更换枪头，防止样品之间交叉污染。

- 反应**
- 将水浴锅或 PCR 仪温度设置为 65°C，放入反应管，孵育 60min。
- 注意：采用水浴锅进行反应时，提前开启水浴锅并设定目标温度。

- 结果判定**
- 65°C 反应 60min 后，立刻取出反应管，在光线良好的环境中观察（建议以白纸或白色背景），通过反应管溶液颜色的变化，即可判断检测结果。如果溶液为天蓝色，则说明有支原体污染（阳性）。如果为紫色，则说明没有支原体污染（阴性）。



如果反应后，发现个别样品的颜色介于阳性和阴性之间，可以将这些样品单独继续 65°C 反应 10min。10 min 后，如果其颜色和阳性对照颜色相同，则为阳性；若与阳性对照的颜色不同，该样品应该判为阴性。

反应后，请勿打开反应管的盖子，否则有可能造成检测环境的污染。

相关产品

产品名称	货号	规格
MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒	RA-MT01-25T	25 tests
MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒	RA-MT01-50T	50 tests
MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒	RA-MT01-100T	100 tests

联系我们

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话：[0512-87663137](tel:0512-87663137)
 - 技术支持：techserv@rhinobio.com
-

RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司
苏州瑞特佰生物科技有限公司
网 址: www.rhinobio.com
电 话: 0512-87663137
邮 箱: techserv@rhinobio.com



公众号



联系客服

