

支原体PCR检测试剂盒

20 T WLA111a



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称

支原体PCR检测试剂盒

产品概述

PCR Mycoplasma Test Kit 应用聚合酶链式反应技术 (PCR) 对支原体16s-rRNA基因保守区域的特异性片段进行扩增检测。该方法可以在数小时内得到结果,与传统的选择性培养基培养检测方法相比较,本方法更快速,灵敏度和特异性更高,不会出现由于培养法检测时大量培养支原体而可能带来的次级污染的问题。

包装信息

试剂名称	WLA111a (20T)	保存条件
PCR反应液	400 μ l	-20 $^{\circ}$ C
Taq酶	20 μ l	-20 $^{\circ}$ C
DNA阳性对照	1管	-20 $^{\circ}$ C

保存日期

本试剂盒自订购之日起一年内有效,开封后请尽快使用。

注意事项

1. 使用本试剂前请仔细阅读本说明书全文。
2. 操作时应尽量少说话,因口腔中也含有支原体,可能引起样品污染,而造成假阳性;整个检测过程中,反应体系的配制、样本处理及加样、PCR扩增应分区域进行,以避免交叉污染。
3. 实验时,试剂盒组分中的试剂使用前应充分融化并混匀(混匀时禁止激烈振荡,只需要进行上下倒置多次进行混匀)。
4. 反应管中加好所有的试剂后,应尽快上PCR仪进行扩增,以免形成过多的二聚体。
5. 细胞培养物中含有青霉素和链霉素等抗生物素不会影响本品的检测结果。如果用户需要进一步提高检测灵敏度,建议细胞在不含青霉素和链霉素等抗生素中进行培养2-3天后送样检测。

操作流程

[注]:当细胞生长至80-90%时可以取样进行检测,培养液中的青霉素和链霉素不会影响检测效果。

1. 收取待检样品(贴壁细胞:细胞生长至80%左右即可,送检细胞不能用消化液消化细胞,可以使用细胞刮刀刮取细胞;悬浮细胞:细胞生长至80%左右即可),取150 μ l(约 $1\sim 3\times 10^5$ 细胞数)至离心管,沸水浴10min。
2. 将煮沸过的细胞悬浮液12000rpm离心2-5min。
3. 取上清4 μ l作为PCR反应模板。
4. 充分融化PCR反应液,按下列表格配制反应混合液,并以21 μ l/管分装至PCR反应管中。

试剂	1个反应体系	5个反应体系	20个反应体系
PCR反应液(μ l)	20	100	400
Taq酶(μ l)	1	5	20

5. 每个PCR反应管中加入处理好的样品4 μ l,DNA阳性对照和阴性对照各加入4 μ l/管。
6. 将所有PCR反应管放入PCR仪,参照以下参数运行PCR仪。

预变性	94 $^{\circ}$ C for 5min	} 30cycles
循环	94 $^{\circ}$ C for 30sec	
	56 $^{\circ}$ C for 30sec	
	72 $^{\circ}$ C for 45sec	
延伸	72 $^{\circ}$ C for 5min	

支原体PCR检测试剂盒

20 T WLA111a

仅用于科学研究,不能用于诊断



产品信息

7. 取10 μ l PCR扩增产物, 在1%琼脂糖凝胶上直接点样 (注: 无需再加溴酚蓝, 扩增产物已包含溴酚蓝), 120V电泳20分钟 (可根据电泳仪的情况, 适当调整参数)。

8. EB染色观察。

电泳参考图

