

去除支原体， 让你的细胞充满活力 — 依科赛支原体检测

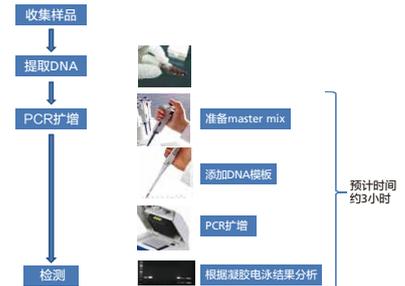
产品介绍

为了方便客户高效的检测支原体的污染，依科赛分别推出了基于传统PCR方法的支原体检测试剂盒- Mycoplasma Detection Kit with UDG PCR mix和基于LAMP（等温扩增方法）的第二支原体检测试剂盒- Mycoplasma one-step LAMP Detection Kit，这两种方法各有优点，相互补充，能够根据客户的需求提供最佳的检测方案！

方法一：基于PCR方法的支原体检测试剂盒

产品原理

该产品对绝大多数支原体基因的高度保守的rRNA操纵子（支原体基因组中16SrRNA的编码区序列），具有很高的特异性，只要加入模板，引物和PCR MIX，利用常规的PCR方法对细胞培养物是否被支原体污染进行判别。



产品特点

- 检测范围广：可检测54种支原体；除能检测细胞常见支原体污染外，还可检测Acholeplasma, Ureaplasma, Spiroplasma等种属
- 灵敏度高：能够检测大于10-20拷贝的靶DNA
- 可排除假阴性：每一PCR管（阴性对照除外）都可扩增一条150bp的宿主细胞DNA条带，用来排除因PCR自身条件不合适而引起的假阴性
- 有效防止PCR 产物的交叉污染：配以100% dUTP和UDG 酶

方法二：基于LAMP方法的支原体检测试剂盒

产品原理

环介导等温扩增技术（Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP）是一种新型的核酸扩增技术，其基本原理是采用6条特异引物和具有链置换功能的DNA聚合酶，在65℃左右对核酸进行等温扩增。



产品特点

- 温度：整个过程只需1个温度，在一个水浴锅内即可完成，不需要用PCR仪设置复杂的扩增程序。
- 特异性：PCR只用2个引物与靶序列结合；而LAMP使用6个引物，特异性极好。
- 扩张效率：LAMP的扩增效率比PCR高10-1000倍，所以灵敏度比PCR高几个数量级。
- 操作极其简单：不需提取样品DNA，直接加入培养液上清即可，不需跑胶检测，根据反应管颜色，肉眼判断实验结果。

方法一 实验实例

M 1 2 3 4 5 6 7 8



图一：利用PCR方法对细胞样品进行支原体检测的凝胶电泳结果。泳道M：NEB 1Kb DNA Marker；泳道1、2：样品1的细胞裂解液和细胞培养上清；泳道3、4：样品2的细胞裂解液和细胞培养上清；泳道5、6：样品3的细胞裂解液和细胞培养上清；泳道7、8：阴性和阳性实验对照，其中280bp条带为支原体DNA条带，150bp条带为宿主细胞DNA条带。

方法二 实验实例

阴性反应 阳性反应



图二：利用LAMP方法对细胞样品进行支原体检测的结果。左侧支原体检测呈现紫色的为阴性反应，右侧支原体检测呈现蓝色的为阳性反应

方案选择指南

LAMP检测方法		PCR检测方法
原理	针对支原体DNA，设计6条特异引物和具有链置换功能的DNA聚合酶，在65℃左右对核酸进行等温扩增，加入特定的指示剂，指示支原体的存在	针对支原体DNA用PCR检测可疑样本，其中PCR引物通常针对支原体的16SrRNA基因。在凝胶电泳过程中，支原体DNA会显示为特异性条带，以此指示支原体的存在
仪器	水浴锅	PCR仪
温度	65度	需设定热循环程序
特异性	6个引物与靶序列结合，特异性极好	2个引物与靶序列结合
扩增效率	10 ¹⁰ 倍	10 ⁷ 倍
结果检测	肉眼观测反应管颜色	跑胶检测
耗时间	约1h	约3h
运输温度	常温	-20度
成本	¥¥¥	¥¥

产品信息

货号	英文品名	规格
LAMP方法		
MB000-1501	Mycoplasma one-step LAMP Detection Kit	48rxn
MB000-1502	Mycoplasma one-step LAMP Detection Kit	96rxn
PCR方法		
MB000-1391	Mycoplasma Detection Kit	48 rxn
MB000-1392	Mycoplasma Detection Kit	96 rxn
MB000-1491	Mycoplasma Detection Kit with UDG PCR mix	48 rxn
MB000-1492	Mycoplasma Detection Kit with UDG PCR mix	96 rxn

常见问题分析

问题	可能原因	解决方法
使用PCR方法检测出现假阳性	有PCR产物的交叉污染	建议选用含有热不稳定性UDG酶的试剂盒或自行加入100% dUTP和UDG酶
使用LAMP方法检测出现假阳性	65℃反应时间过长	在水浴锅65℃反应的时间必须准确计时，切勿超过 65 分钟或者在PCR仪上操作，PCR 仪参数如下：65℃，60 min；15℃，∞；热盖温度，100℃
	使用细胞上清作为检测样品	在支原体污染较少的情况下，使用细胞上清作为样品可能检测不到支原体污染，建议使用细胞作为检测对象
出现假阴性实验结果	培养液中含有严重的PCR反应抑制物	应先把模板适度稀释，再加入反应体系中，减少抑制物的影响；建议用试剂盒进行DNA提取后再进行PCR鉴定
	水分蒸发，反应体系不准确	在水浴锅内反应，可以往每个反应管中加入 25 微升矿物油，以防止水分的挥发；或在 PCR 仪上进行反应，无需加入矿物油
阳性对照没有呈现阳性	阳性对照使用前没有离心	使用前请先离心后小心开启，以免飞扬丢失

