

DfCell Mycoplasma LAMP Plus Detection Kit

DfCell 支原体高敏快速检测试剂盒（LAMP）

产品简介

DfCell 支原体高敏快速检测试剂盒（LAMP）基于 LAMP 法对细胞培养液中支原体污染进行快速检测，采用独特的环介导等温扩增（Loop-Mediated Isothermal Amplification, LAMP）技术，针对支原体 16S-23S rRNA 序列保守区域设计特异性引物，可直接以细胞培养上清或血清等生物材料为模板进行扩增。若样品被支原体污染，支原体 DNA 的保守序列会被大量迅速扩增，使反应液由蓝紫色变成天蓝色，肉眼可辨，无需电泳。本试剂盒可以检测 33 种支原体，包括国内外药典法规要求的口腔支原体 (*M. orale*)、肺炎支原体 (*M. pneumoniae*)、猪鼻支原体 (*M. hyorhinis*)、唾液支原体 (*M. salivarium*)、精氨酸支原体 (*M. arginini*) 等。灵敏度可达 500 copies/uL，100 CFU/mL 支原体标准菌株也可正常检测，特异性强、灵敏度高、操作方便快捷。相较于老款一步法检测试剂盒，进一步降低了假阳性率，提高了检测结果的准确度，并增强了阴性和阳性的颜色辨识度。在扩增结束后，在室温放置一段时间也不会出现由阴性转变为阳性的现象，不影响结果判断。

产品信息

货号	C230115E	C230115S	C230115M
规格	5 T	25 T	100 T

组分信息

组分编号	组分名称	C230115E	C230115S	C230115M
C230115-A	DfCell-Color LAMP Buffer	85 μ L	425 μ L	425 μ L $\times$ 4
C230115-B	DfCell-Color LAMP Enzyme	5 μ L	25 μ L	25 μ L $\times$ 4
C230115-C	DfCell-Color LAMP Primer	10 μ L	50 μ L	50 μ L $\times$ 4
C230115-D	Mineral oil	100 μ L	500 μ L	500 μ L $\times$ 4
C230115-E	Positive Control	10 μ L	10 μ L	10 μ L $\times$ 4

储存条件

干冰运输，-25~-15℃保存*，有效期 12 个月。

*整个试剂盒若较长时间不用，请避光保存。

注意事项

1. 使用本试剂盒前请仔细阅读说明书，实验应规范操作，包括样本处理、反应体系的配制及加样。
2. 试剂冰冻与融化后的颜色不一致为正常现象，通常表现为融化后颜色呈蓝紫色，冰冻时颜色较融化后相对变浅。

3. 试剂本身为蓝紫色，如若发现加入样本后引起试剂颜色发生明显变化（例如由蓝紫色变为黄色或者粉色等），建议样本稀释 8 倍后进行检测。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
5. 本产品仅用于科研。

使用说明

1. 实验前准备

提前准备实验所需试剂耗材、设备和仪器，如：移液枪、无菌吸头、离心管等耗材；离心机、漩涡振荡器、水浴锅或 PCR 仪等仪器。

2. 实验方法

1) 待测样本类型：

- a. 贴壁细胞：直接吸取上清。建议细胞传代或换液 3 天以上，且汇合度达到~90%时取样，此时支原体含量较高，便于检出。
- b. 悬浮细胞：5000 g 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。

2) 反应体系：

将 DfCell -Color (C230115-A、C230115-B、C230115-C) 从-25~-15℃取出，溶解后颠倒混匀，瞬时离心确保所有液体落到管底。根据待检测样品量，配制如下体系（通常实验需要设置阴性对照和阳性对照）。

表 1 PCR 反应体系配制

试剂	单次反应体积 (μL)	总反应体积 (μL)	
DfCell -Color LAMP Bufefr (C230115-A)	17	× 样品数	——
DfCell -Color LAMP Enzyme (C230115-B)	1		——
DfCell -Color LAMP Primer (C230115-C)	2		——

3) 加样：

- a. 阴性对照 (NTC)：第一支反应管中不加入任何样品，作为阴性对照，即 NTC 样本为 20 μL 上述表 1 中的混合液；
- b. 阳性对照 (PCS)：另取一个反应管，放到最后再加样（向其中加入 1 μL Positive Control），作为阳性对照，即 PCS 样本为 20 μL 上述表 1 中的混合液+ 1 μL Positive Control；
- c. 待测样品 (TS)：向其余反应管中加入 1 μL 待测培养上清，即 TS 样本为 20 μL 上述表 1 中混合液 + 1 μL 待测培养上清。

【注】NTC、PCS 和 TS 等每管反应液混匀后，向其中加入 15 μL 矿物油封层，加入矿物油后不能进行混匀操作，只能离心。实验室支原体污染十分常见，鉴于本试剂盒反应灵敏，建议用户在超净台中配制组分并减少反应后开盖次数，以免出现假阳性结果出现。

4) 反应条件：

加完样后，在水浴锅或 PCR 仪中，恒温 63° C 孵育 40 min。

【注】本试剂盒所用酶对温度非常敏感，强烈建议使用 PCR 仪操作；若使用水浴锅，应先加热使其达到 63°C ~ 65°C 后再反应，若反应温度低于 63°C ，将可能会引起假阳性。另外，反应时间可根据使用需求，适当延长 10 min 左右（反应时间仅能延长不能缩短），该反应时间的延长不会影响检测结果。

5) 结果判读：

63°C 反应 40 min 后，立刻取出反应管，放于室温。在光线良好的环境中观察反应结果（建议以白纸为背景）。如果反应液仍为蓝紫色，则判定为阴性；若反应液为天蓝色，则判定为阳性。

【注】在 63°C 反应的时间必须准确计时，超过说明书规定的反应时间可能会出现假阳性。反应管不可开盖，否则会出现空气中支原体污染反应，产生假阳性的现象。

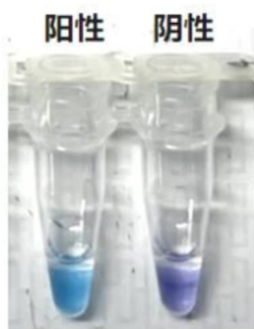


图 1 支原体检测结果参考依据（以 24 孔板为例，其他培养板加样体积请参考表一）