



产品使用说明书

Rhinogen[®] MycoAlarm[™] 支原体 检测试剂盒

货号：RA-MT01



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
检测准备	4
试剂准备	4
样品和对照	4
实验步骤	4
数据分析	5
常见问题	6
相关产品	7
联系我们	8

产品信息

试剂包装 Rhinogen® MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒包装规格如下：

RA-MT01 规格：

试剂组分	货号	规格		
		25 tests	50 tests	100 tests
MycoAlarm™ 检测试剂 (冻干粉)	RA-MT01A	1×1.5 ml	1×3 ml	2×3 ml
MycoAlarm™ 底物试剂 (冻干粉)	RA-MT01B	1×1.5 ml	1×3 ml	2×3 ml
MycoAlarm™ 测定缓冲液	RA-MT01C	1×4 ml	1×8 ml	2×8 ml

RA-MT02 规格：

试剂组分	货号	规格
MycoAlarm™ 阳性对照 (冻干粉)	RA-MT02A	1×1.2 ml
MycoAlarm™ 阳性对照稀 释液	RA-MT02B	2×1.5 ml

保藏条件

冰袋运输，收货后：

- 1) 将RA-MT01试剂盒2~8°C存储，请勿冻存。试剂盒取出恢复至室温（20-22°C最佳），复溶后取所需体积备用；
- 2) 将RA-MT02试剂盒置于-70°C长期存储或-20°C短期存储，建议未使用部分试剂按用量分装避免试剂反复冻融，试剂使用前请恢复室温（20-22°C最佳）；
- 3) 试剂复溶后置于-70°C保存，建议3个月内使用完。

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，检测方法主要包括荧光染色法、培养法、核酸扩增法和生化检测方法。

概述

Rhinogen® MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒采用了生化方法进行支原体检测。利用支原体特有的 ATP 合成相关酶，在底物存在的条件下可以转化 ADP 为 ATP。存活的支原体溶解后，释放大量的酶与底物反应，促进 ADP 转化为 ATP，提供一种快速、灵敏的样品检测方法。通过对比加入底物后样品 ATP 含量的变化检测，即可通过前后含量变化比例来确定有无支原体。反应如下：



特性

- ✓ **操作简单：** 仅需20min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；
- ✓ **发光值高：** 可以兼容多种发光读数计或者多功能酶标仪。

操作方法

检测准备 使用前将所有试剂恢复至室温（20°C~22°C）。

试剂准备 取 MycoAlarm™ 检测试剂（冻干粉）与 MycoAlarm™ 底物试剂（冻干粉），分别加入标注体积的 MycoAlarm™ 测定缓冲液复溶，用移液器轻轻吹打使其混匀，确保试剂恢复至室温后使用（一般放置 20-30 分钟）。

注：1) 根据检测需求，确定溶解一套检测试剂还是多套检测试剂；
2) 试剂恢复室温使用。如需长期保存，请分装后冻存于-70°C。

仪器和耗材

1. 化学发光检测仪（或其他同类仪器）；
2. 桌面型离心机；
3. 10ml 无菌吸头；
4. 化学发光比色皿或者底部不透明白板；
5. 移液器吸头（50~200 μ l 和 200~1000 μ l 规格）。

样品和对照 为了保证检测灵敏度和对低污染情况的检出效果，建议细胞上清样品 1,500rpm（200g）离心 5 分钟，去除样品中的残余细胞，以降低背景干扰。

1. 新鲜培养细胞上清检测效果最佳

- ✓ 悬浮培养细胞传代细胞上清；
- ✓ 贴壁培养细胞胰酶消化前上清。

注：传代至新鲜培养基或者胰酶消化后的细胞由于稀释原因会降低检测信号，因此建议此类样品在检测前继续培养 24 小时。当天检测的样品可以保存于室温或者 2~8°C。

2. 样品保存样

建议样品当天使用，长期保存需要冻存。

注：检测若在孔板中进行，样品加样孔需要与阳性样品的检测孔间隔至少 1 行，避免邻空干扰检测结果，导致样品结果异常。

3. 阳性对照

试剂盒包含阳性对照，该对照品不含支原体，无任何污染风险。建议每次试验包含阳性对照。

4. 阴性对照

使用 50 μ l 试剂盒阳性对照稀释液作为阴性对照，每次实验建议包含阴性对照。

注：检测若在孔板中进行，阴性样品加样孔需要与样品/阳性样品的检测孔间隔至少 1 行，避免邻空干扰检测结果，导致阴性结果异常。

实验步骤

1. 取 2ml 样品（培养产物或者培养上清），1,500rpm（200g）离心 5 分钟，去除细胞和细胞碎片；
2. 取 50 μ l 离心后上清，加入 50 μ l 检测试剂，室温孵育 5 分钟，检测背景 ATP，测得发光值 A（读数前震荡 5 秒）；
3. 加入 50 μ l 底物试剂，室温孵育 10 分钟，测得发光值 B（读数前震荡 5 秒）；
4. 结果计算：所有阳性及待测样品按照下列公式进行计算，B/A。

数据分析

根据发光值 B/A 比值用于判定样品有无支原体污染。由于实验条件和细胞类型不同，判定参数 B/A 比值可能会有所不同。但是比值 <1.0 基本上可以判定为阴性。支原体阳性样品该比值通常会 >1 。

B/A 比值	检测结果判定
<1.0	阴性
1.0-1.2	污染可疑，继续培养 24 小时后检测
>1.2	阳性

常见问题

问题描述	原因分析	解决方案
检测背景高	实验操作污染。皮肤表面有大量的 ATP 存在，可能会导致污染和高读值。	实验操作请戴手套
临界比值 (~1)	污染程度较低	样品继续培养 24 小时后重新检测
读值/比值为负值	自动背景扣除功能打开会导致读值 B 为负值	关闭自动背景扣除功能

相关产品

产品名称	货号
Myco-Visal™ 一步法快速支原体检测试剂盒	RA-MT03-25T
	RA-MT03-50T

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

