



产品使用说明书

Rhinogen[®] Myco-Farbe[™] 快速支原体 检测试剂盒

货号：RA-MT12



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
常见问题	5
相关产品	6
联系我们	7

产品信息

试剂包装 Rhinogen® Myco-Farbe™ 快速支原体检测试剂盒包装规格如下:

试剂组分	货号	规格	
		25 T	50 T
Myco-Farbe™ 检测 缓冲液	RA-MT12A	610µl	2×610µl
Myco-Farbe™ 检测酶	RA-MT12B	28µl	2×28µl
阳性对照	RA-MT12C	10µl	2×10µl
矿物油	RA-MT12D	690µl	2×690µl

存储条件 使用冰袋运输, 到货后请置于-20°C长期保存。尽量避免反复冻融。
试剂使用前请恢复至室温。

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

Rhinogen[®] Myco-Farbe[™] 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 62 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。

产品特性

- ✓ **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。
-

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或 PCR 管中配制如下反应体系：

组分	单个样品加样设计	配合混合液
Myco-Farbe™ 检测缓冲液	23μl	×样品数 ^a ×1.1 ^b
Myco-Farbe™ 检测酶	1μl	

- 注意：a) 建议每次实验都添加一组阳性对照及一组阴性对照；
b) 移液器存在移液误差，建议按照实际反应数 1.1 倍配制混合液。

加样品至 检测体系 中

- ✓ 样品：向反应管中加入 1μl 待测培养液上清；
 - ✓ 阳性对照：加入 1μl 阳性对照；
 - ✓ 阴性对照：加入 1μl 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

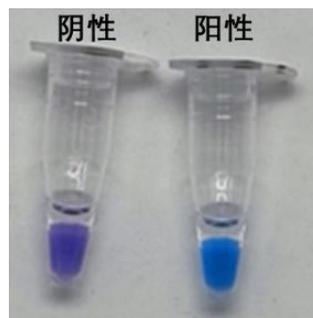
- 在各反应管中加入 25μl 矿物油，以防止液体蒸发导致结果不准确。
- 注意：1) 加入矿物油之后，将反应管 500g 瞬离一下，确保液体集中于管底；
2) 加入矿物油时请注意更换枪头，防止样品之间交叉污染；
3) 如果反应在 PCR 仪中进行，不需要加入矿物油。

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（最好经温度计校准）。

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/蓝紫色，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，可继续反应 10~30min，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。

常见问题

孵育几个小时才变色，是阴性还是阳性？

- 1) 试剂盒为显色反应，超过 60min 显色不稳定，结果可信度下降；
- 2) 如果怀疑细胞有支原体污染，可以将细胞传 2-3 代后重新测定，如果重新测定 60 min 并未有显色，说明没有支原体污染；
- 3) 本试剂盒可以检测出细胞污染的常见支原体种类，对于少数怀疑可能有不能鉴定的支原体种类污染的、比较重要的细胞，推荐使用 Rhinogen® MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒 (RA-MT01) 进行双重检测。严格的支原体检测，需使用两种以上不同原理的方法同时检测，才能更有效地避免假阳性和假阴性。

操作过程中如何避免出现假阳性？

- 1) 实验操作时佩戴口罩，穿戴手套及实验服；
- 2) 等温扩增是超高灵敏度的检测，请尽量在标准的 PCR 实验室中进行检测；
- 3) 加样时注意更换枪头，建议将阳性对照放在最后一管加入；
- 4) 反应结束后，不能打开管盖，否则反应产物极易产生气溶胶污染；
- 5) 判断结果后，密封后按实验室废弃物处置要求进行处理。

加入样品后出现颜色差异？

本产品含颜色指示剂，样品中不能含有高浓度的 EDTA 等金属离子螯合剂。未进行反应前，如果加入样品后颜色和阴性、阳性颜色有明显差异，则需要稀释样品或者适当调整样品的 pH 至接近中性，也可使用 Rhinogen® Myco-EXT™ 支原体 DNA 提取纯化试剂盒 (RA-MT04) 处理样品。

试剂盒可以检测多少种支原体？

本试剂盒可以扩增的支原体种类：

<i>Acholeplasma laidlawii</i>	<i>Mycoplasma citelli</i>	<i>Mycoplasma lipophilum</i>
<i>Mycoplasma arginini</i>	<i>Mycoplasma cloacale</i>	<i>Mycoplasma maculosum</i>
<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Mycoplasma columbina</i>	<i>Mycoplasma meleagridis</i>
<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Mycoplasma columbinum</i>	<i>Mycoplasma moatsii</i>
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	<i>Mycoplasma cricetuli</i>	<i>Mycoplasma mobile</i>
<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Mycoplasma crocodyli</i>	<i>Mycoplasma neophronis</i>
<i>Mycoplasma pirum</i>	<i>Mycoplasma cynos</i>	<i>Mycoplasma neurolyticum</i>
<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Mycoplasma edwardii</i>	<i>Mycoplasma opalescens</i>
<i>Acholeplasma granularum</i>	<i>Mycoplasma falconis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Acholeplasma oculi</i>	<i>Mycoplasma felifaucium</i>	<i>Mycoplasma primum</i>
<i>Acholeplasma pleciae</i>	<i>Mycoplasma gallinarum</i>	<i>Mycoplasma procyoni</i>
<i>Mycoplasma agalactiae</i>	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>Mycoplasma pullorum</i>
<i>Mycoplasma agassizii</i>	<i>Mycoplasma gallopavonis</i>	<i>Mycoplasma pulmonis</i>
<i>Mycoplasma alkalescens</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma simbae</i>
<i>Mycoplasma alvi</i>	<i>Mycoplasma hyopharyngis</i>	<i>Mycoplasma spermatophilum</i>
<i>Mycoplasma arthritidis</i>	<i>Mycoplasma hyosynoviae</i>	<i>Mycoplasma sphenisci</i>
<i>Mycoplasma auris</i>	<i>Mycoplasma iguanae</i>	<i>Mycoplasma synoviae</i>
<i>Mycoplasma bovis</i>	<i>Mycoplasma iners</i>	<i>Mycoplasma testudineum</i>
<i>Mycoplasma bovigenitalium</i>	<i>Mycoplasma lagogenitalium</i>	<i>Mycoplasma timone</i>
<i>Mycoplasma canadense</i>	<i>Mycoplasma leopharyngis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Mycoplasma caviae</i>	<i>Mycoplasma lipofaciens</i>	

注意：黑标的为细胞培养过程中最常见的种类。

相关产品

产品名称	货号
MycoAlarm™支原体检测试剂盒	RA-MT01
Myco-Visal™一步法快速支原体检测试剂盒	RA-MT03
Myco-EXT™支原体 DNA 提取纯化试剂盒（磁珠法）	RA-MT04
Myco-Acid™qPCR 支原体检测试剂盒	RA-MT05
Myco-Acid™PCR 支原体检测试剂盒	RA-MT06
Myco-EXT™支原体 DNA 自动化提取试剂盒（非预装）	RA-MT07
Myco-EXT™支原体 DNA 自动化提取试剂盒（预装）	RA-MT08

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

