



MycoGuard™ 支原体检测试剂盒（生物化学发光法） 使用说明书

—— MycoGuard™ Mycoplasma Bioluminescent Detection Kit

Cat. No. MPD-E-010 (10 次反应)

MPD-E-050 (50 次反应)

GeneCopoeia, Inc. 广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城
掬泉路3号广州国际企业孵化器F区8楼
邮编: 510663
电话: 4006-020-200
邮箱: sales@igenebio.com
网址: www.genecopoeia.com
www.igenebio.com

© 2015 GeneCopoeia, Inc.

使用手册：

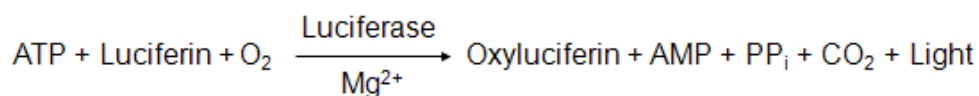
Mycoguard™ Mycoplasma Bioluminescent Detection Kit

- I. 产品简介
- II. 应用范围
- III. 产品优势
- IV. 试剂盒组成
- V. 实验流程
- VI. 实验所需仪器及材料
- VII. 样品准备
- VIII. 实验步骤
- IX. 注意事项
- X. 结果分析
- XI. 使用限制与质量保证

I. 产品简介

Mycoguard™ Mycoplasma Bioluminescent Detection Kit 应用了一种高效的、选择性的生物化学检测，通过检测在支原体中特定酶的活性，从而测得样本中存在的支原体。

原理：支原体被溶解后，释放到培养基的支原体酶与 Mycoguard™ 底物相互反应，可催化 ADP 转换为 ATP。ATP 含量的变化可通过生物发光的原理检测，由 ATP 激发的荧光强度与 ATP 浓度呈线性关系。通过计算样本在添加底物前和添加底物后的 ATP 比率，可判断样品中是否存在支原体。



II. 应用范围

支原体污染是细胞传代及培养中的常见问题。支原体是最小、最简单的原核生物，由于自身缺乏生物合成功能，支原体通常依靠与细胞竞争培养基中的养分存活，易导致细胞增殖速度减慢、改变基因表达、代谢特征及细胞形态等，影响实验结果的稳定性、可靠性和准确性。

支原体很难检测，传统的支原体检测方法需耗费大量时间，且无法在早期发现污染。GeneCopeia 推出的 Mycoguard™ 支原体检测试剂盒可快速、简单检测出细胞培养过程中存在的支原体，便于监控细胞培养过程，或为培养基中的各组分进行常规检测。

保证测试频率可以及时反映细胞受支原体污染的准确时间，以便及时采取清除支原体的措施，我们建议在每次细胞传代后进行一次测试。

III. 产品优势

操作时间短： 半小时内即可完成实验操作及检测过程；

灵敏度高： 添加底物前，荧光数值稳定；添加底物后，荧光数值快速增长，并呈现稳定的上升趋势（图 1）；

稳定性强： 在不同的孵育时间条件下，底物浓度与荧光读数的增长关系保持稳定。

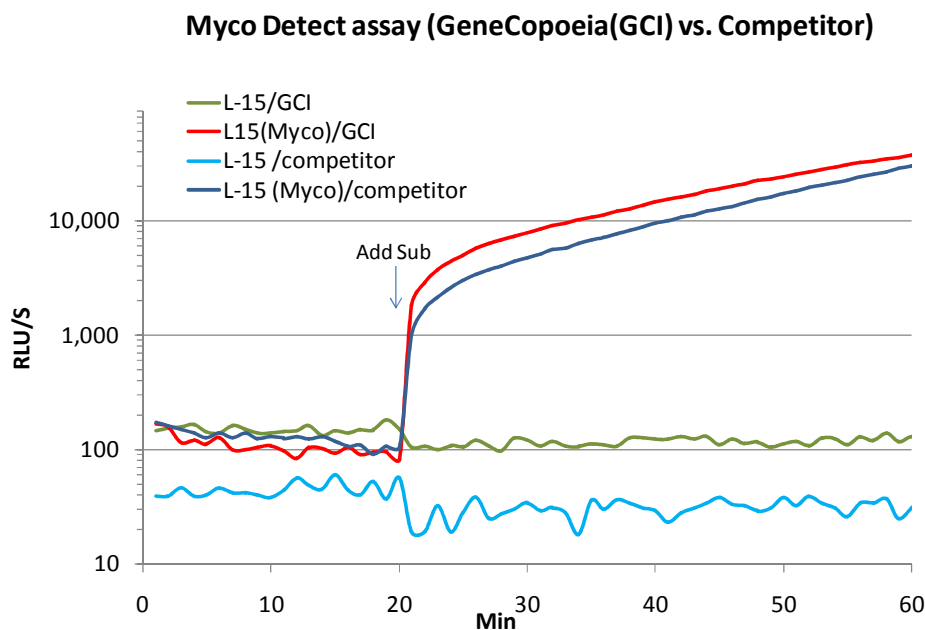


图 1. MycoGuard™ 支原体检测试剂盒与某公司同类试剂盒的灵敏度对比 两家公司的产品分别检测含支原体污染的 L-15 培养基 (L15-(Myco)) 以及阴性对照的培养基(L15)。添加底物后，两家公司的检测试剂盒在支原体污染的样品中均有较明显的数值攀升，且数值上升趋势稳定。GeneCopoeia (GCI) 的试剂盒在阳性对照中灵敏度略高于竞争对手公司的产品。

IV. 试剂盒组成

试剂盒组成及推荐储存环境(表格内容参照货号 Cat. No. MPD-E-010/ MPD-E-050)

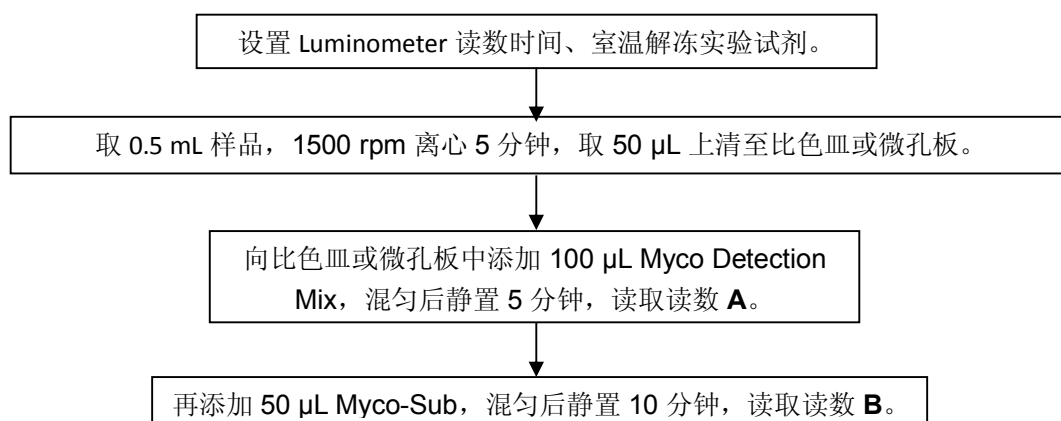
试剂盒成分	包装规格	运输温度	保存条件
Myco Detection Mix	1 mL	低温运输	-20°C或-80°C保存至少6个月
	1 mL×5		
Myco- Sub	0.5 mL	低温运输	-20°C或-80°C保存至少6个月
	0.5mL×5		
Myco-positive *	100 µL	低温运输	-20°C或-80°C保存至少6个月
	500 µL		

注：* Myco-positive 培养基含有指示剂，在低温固体状态下颜色不均一，呈红色或黄色。使用时，请解冻 Myco-positive 并充分混匀至颜色均一后再使用。阳性对照不含支原体，无支原体污染的潜在危险。如需要更

多阳性对照，可单独购买 Myco-positive。单独出售的 Myco-positive 包装规格为 500 μ L。

一般情况下，2-3 次冻融对试剂活性不会造成大影响。如需多次使用，请在第一次使用时，根据实际情况适当分装试剂。

V. 实验流程



VI. 实验所需仪器及材料

Luminometer、或其它具有 luminescence 检测功能的化学发光仪；
光度计比色皿或白色壁、底部透明的微孔板；
50-200 μ L 移液器、200-1000 μ L 移液器；
无菌枪头。

VII. 样品准备

我们推荐使用新鲜取样的细胞培养液作为样品。用作样品的细胞培养液以 1500 rpm (200 g)离心 5 分钟，吸取上清液用于检测。

提醒：对细胞培养液进行离心是为了彻底去除培养液中的残留细胞。样品中残留的细胞会使背景增高，影响检测灵敏度和分辨率，不利于检测较轻微程度的支原体污染。

A. 新鲜取样的细胞培养液（推荐）

1. 悬浮细胞取样：进行传代时取培养液；
2. 贴壁细胞取样：进行消化前取培养液；
3. 复苏细胞取样：冻存细胞添加进新鲜的全培养基，培养 1-2 小时后取培养液。

提醒：细胞刚传代后或消化后，支原体检测信号将会降低。如在细胞传代或消化后取样检测，需在传代或消化完毕的 24 小时后取样。

B. 以低温保存的细胞培养液

一般情况下，我们建议采用新鲜取样的培养液作为样品。如取样后暂未能检测，样品可在 4 $^{\circ}$ C 保存 5 天以内。检测前将样品静置在室温环境，待样品温度回复到室温后即可进行检测。

VIII. 实验步骤

1. 从冰箱取出所有试剂，室温静置解冻（**注意避光**），并使试剂恢复到室温；
(**提醒**：当试剂从冰箱取出后，使用前须确保试剂已恢复到室温，请勿以水浴加热或其它外力为试剂升温。)
2. 取 0.5 mL 细胞培养液作为样本，1500 rpm (200 g)离心 5 分钟去除培养液中残留的细胞，吸取 50 μ L 上清液至比色皿或微孔板；
3. 将 Luminometer 的读数时间设置为 1 秒；
4. 将 100 μ L Myco Detection Mix 添加到样品中，混匀后静置 5 分钟；
5. 进行读数，获得读数 A；
6. 将 50 μ L Myco-Sub 添加到样品中，混匀后静置孵育 10 分钟；
7. 进行读数，获得读数 B；
8. 计算比率：比率 = 读数 B \div 读数 A。

IX. 注意事项：

1. 本方法的最佳实验温度是 22 $^{\circ}$ C。当试剂从冰箱取出后，在使用前须确保试剂自然恢复到室温，请勿以水浴加热或其它外力为试剂升温；如需长期存放试剂，推荐根据每次实验用量进行分装，并避免反复冻融；
2. 为保证数据准确性，实验前请校准移液器；
3. 推荐在每次实验中添加阳性及阴性对照；
4. 建议处理样品和进行实验时佩戴乳胶手套。人的皮肤表面含大量ATP，将可能对样品造成污染，造成假阴性或假阳性。

X. 结果分析

比率 (读数 B \div 读数 A)	结果判断
<0.9	阴性，无支原体污染
0.9-1.2	结果较可疑，建议 24 小时后再次检测
>1.2	存在支原体污染

根据细胞种类及其它实验条件的差异，比率与结论之间的关系可能存在波动。通常情况下，受支原体污染的细胞将获得>1 的比率。如发现检测所得比率大于 1，推荐在 24-48 小时后再次检测，观察比率是否有增长趋势。

如几次检测的比率一直约等于 1，可能与检测仪器的灵敏度有关，可将读数时间从 1 秒调整到 1-10 秒的区间，并检查 Luminometer 的读数模式是否已正确设定。

XI. 使用限制与质量保证

使用限制

以下条款适用于MycoGuard™支原体检测试剂盒产品。若您不能接受这些条款，请在5个工作日内将产品完整退还给GeneCopoeia。产品购买者需遵守最终用户限制许可条例。本产品仅限购买者内部研究使用、且仅限于实验科学研究用，不得使用于人体或诊断、治疗。若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途，本公司概不承担任何责任。未经GeneCopoeia事先书面同意，本产品不得转售，不得重新包装或修改后转售，不得用于生产商用产品。

质量保证

GeneCopoeia保证产品与产品数据表中描述的规格保持一致。若经GeneCopoeia证实产品未达到规格要求，GeneCopoeia将为您替换产品。若无法替换，GeneCopoeia将退款给购买者。此质量保证仅适用于最初产品购买者。GeneCopoeia仅负责替换产品或退还实际的购买金额。对于由使用或不正确使用产品产生的损害或使用其他相关材料和试剂产生的损耗，GeneCopoeia不承担责任。GeneCopoeia不提供任何形式的明示的或者默示的保证，包括对适销性、适用于特定用途的默示保证。

GeneCopoeia致力于为消费者提供高质量的研究产品。如果您对GeneCopoeia的产品有任何问题或疑虑，请拨打电话4006-020-200联系我们。

© 2015, GeneCopoeia, Inc.

GeneCopoeia, Inc.

9620 Medical Center Drive, Suite 101

Rockville, MD 20850

+1 (301) 762-0888

+1 (866) 360-9531

inquiry@genecopoeia.com

广州易锦生物技术有限公司

广州高新技术产业开发区广州科学城掬泉路3号广州国际企业孵化器F区8楼

邮编：510663

电话：4006-020-200

邮箱：sales@igenebio.com

网址：www.genecopoeia.com（英文） www.igenebio.com（中文）