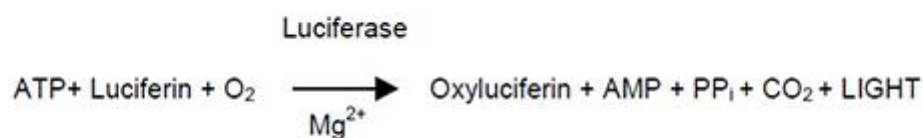


Quick Cell 发光法支原体检测试剂盒使用说明书

产品描述

《Quick Cell 发光法支原体检测试剂盒》通过检测支原体的特异性酶活性以达到检测体外培养的哺乳动物细胞是否被支原体污染的目的。在支原体裂解后，该支原体特异性的酶，在底物存在下，具有将 ADP 转化成 ATP 的功能。由于荧光素酶（Luciferase）催化底物荧光素（Luciferin）产生光的反应需要 ATP 的参与，支原体特异性酶催化产生的 ATP 含量，可以通过该反应转化成生物发光

（Bioluminescence）信号，该信号可以使用专门的发光检测仪（Luminometer）或具有发光检测功能的多功能酶标仪进行检测，发光的强度与 ATP 的含量成正比。通过比较细胞培养上清和未用于细胞培养的培养液上清二者的支原体特异性酶的含量，即可知道培养的细胞是否被支原体污染。反应原理如下：



使用方法

1、检测试剂的准备

产品从-80℃冰箱取出，在冰上操作，第一次使用，分别用 2.5 mL 支原体检测溶液溶解试剂 A 和试剂 B，按每管 50 μL 可分别分装到 50 个 1.5 mL 离心管中，根据待检测的样品数量及阴性对照数量确定

A, B 试剂的用量(不用的试剂放置于-80 °C 冰箱低温保存,随用随取)。
试剂 A 和试剂 B, 放室温 5 分钟左右(注意: 不能加热), 等其熔解后放冰上待用。

注意: 试剂 A 和试剂 B 只能在每次检测之前从-80 °C 冰箱取出的, 熔解后在室温放置的时间尽可能的短, 不能超过 20 分钟。熔解后, 放冰上的时间也不能超 2 小时。已经融化后的试剂 A 和试剂 B 不能再次冻存使用。

2、阴性对照的设置

本试剂盒每次检测都必须设置阴性对照。阴性对照除了没有培养细胞外其他成分完全相同, 包括其中的血清批次、含量, 抗生素等含量也必须完全相同。阴性对照配制完后放于 4°C 冰箱。

3、待测样品的准备

为了准确判断细胞是否有支原体的污染, 。具体操作如下(请严格按照相应的体积进行操作):

(1) 贴壁细胞待测的细胞培养 3 天且汇合度在 70-90%左右时, 取 180 μ L 培养液上清上, 在普通台式离心机上 200 g (大约 1500 rpm)低速离心 5 分钟, 准确吸取离心后的上清 120 μ L 到一个新的 1.5 mL 离心管内, 丢弃含细胞沉淀的原有离心管。

悬浮培养的细胞需要在换液传代后, 至少让细胞生长 3 天再取培养液进行检测。

注意: 离心力要严格控制在 200 g 左右, 该离心力下, 哺乳动物细胞将被沉淀下来而支原体不会。更高的离心力将可能导致支原体也被

离心下来，从而导致假阴性。而更低的离心力将可能导致哺乳动物细胞不能被离心沉淀下来，从而导致支原体检测时，哺乳动物细胞内的 ATP 也被释放到溶液中，从而导致假阳性。

(2)将含有 120 μL 上清的 1.5 mL 离心管，在台式离心机上 16000 g (大约 13000 rpm)高速离心 3 分钟，弃去上清 (约 108 μL) 注意：切勿让吸头碰到离心管底部，底部为可能含有支原体的沉淀。往离心管内，加入 108 μL 先期配好的阴性对照培养液，并上下吹吸 10 次，将可能含有支原体的沉淀吹打均匀。该样品用于后续的支原体检测。

注意：将培养液替换成阴性对照的培养液是为了排除一些细胞代谢产物对后续检测的可能干扰。

5、将溶解后的试剂 A、试剂 B、阴性对照和待测样品放在室温 10 分钟左右（注意：不能加热），以便其温度与室温相同，本试剂盒的最佳反应温度为 18-30℃，必须确保室温不低于 15℃。

注意：制备好的待测样品如果不是当天立即检测，放于-80℃冰箱保存，不得放于室温、4℃或-20℃冰箱，样品在-80℃可以保存一年左右；为了日后检测方便，应该同时冻存一些作为阴性对照的培养液。

6、吸取 50 μL 阴性对照和待测样品，分别放入不透明（白色或者黑色均可）的 96 孔板内，加入 50 μL 试剂 A，室温反应 15 分钟。

7、加入 50 μL 试剂 B，室温反应 3 分钟后，在多功能酶标仪或者发光检测仪（Luminometer）上，以仪器默认的参数进行发光值的检

测，5 分钟内，连续测 5 次阴性对照和待测样品的发光值，计算各自的平均值。

8、结果判断

计算待测样品的发光平均值与阴性对照的发光平均值的比值：

①如果比值>1.2，说明待测样品有支原体污染（阳性）。严重的污染该比值可以达到 10 以上。

②如果比值在 1.1-1.2 之间，说明待测样品可疑有支原体污染（可疑阳性）。该样品需要继续培养 24-48 小时后，重新检测。如果继续培养 24-48 小时后，重新检测的比值仍然在 1.1-1.2 之间，应该判为阴性。

③如果比值<1.1，说明待测样品无支原体污染（阴性）。

相关产品

产品名称	货号	规格	保存	价格(元)
Quick Cell 支原体快速检测试剂盒(细胞培养专用)	C4056L1060	50 T	-20℃	1250
Quick Cell 发光法支原体检测试剂盒	C4056L1062	50 T	-20℃	1250
Quick Cell PCR 法支原体检测试剂盒	C4056L1064	100 T	-20℃	1350
Quick Cell 支原体去除/预防试剂盒	C4056L1066	2ml	-20℃	1200