



## GENESEED® Taqman Mycoplasma Detection Kit (UNG plus)

GSDetect® Taqman Mycoplasma Detection Kit(UNG plus)基于 Taqman qPCR 法，针对支原体 16S rRNA 的保守区域序列，设计特异性引物和荧光探针（FAM 标记）用于支原体 DNA 的检测。本试剂盒可直接以细胞培养上清或血清等生物材料为模板，检测常见的 16 种支原体污染。

试剂盒内添加 dUTP/UNG 酶体系，能避免 PCR 产物气溶胶污染导致的假阳性，大幅提高检测的准确性。

### 产品特点

- 操作简便，直接使用 1 μL 细胞培养上清或血清进行检测，无需提取 DNA。
- 检测灵敏度高，准确率高，耐受青霉素和链霉素或其他抑制物的影响。
- 特异性强，只能扩增支原体 DNA，不会扩增细菌真菌或真核细胞的 DNA。
- 检测快速，最快 1 小时即可判定结果。

### 产品组分

	组分名称	规格	主要成分
D0101 24 rxns	GENESEED® Myco Mix A	280 μL	特异性引物、探针等
	GENESEED® Myco Mix B	304 μL	热启动 Taq 酶、UNG 酶等
	Myco-Positive Mix	25 μL	含阳性序列的 DNA 片段
	Myco-Free Water	50 μL	支原体阴性的超纯水
D0102 96 rxns	GENESEED® Myco Mix A	4×280 μL	特异性引物、探针等
	GENESEED® Myco Mix B	4×304 μL	热启动 Taq 酶、UNG 酶等
	Myco-Positive Mix	100 μL	含阳性序列的 DNA 片段
	Myco-Free Water	200 μL	支原体阴性的超纯水

### 运输与保存

4°C 运输，-20°C 避光保存，保质期一年。

避免反复冻融，反复冻融次数不超过 7 次，短期使用时可在 4°C 保存一个月。

### 可检测的支原体类型

<i>M. orale</i> *	<i>M. mycoides</i>	<i>M. capricolum</i>	<i>M. arthritidis</i>
<i>M. gallisepticum</i>	<i>M. hominis</i> *	<i>M. hyorhinis</i> *	<i>M. penetrans</i>
<i>M. pirum</i> *	<i>M. salivarium</i> *	<i>M. synoviae</i>	<i>M. arginini</i> *
<i>M. fermentans</i> *	<i>M. pneumoniae</i>	<i>M. genitalium</i>	<i>A. laidlawii</i> *

\*: 培养细胞中污染最常见的支原体类型。

### 注意事项

1. 使用前请仔细阅读本说明书。
2. 规范检测操作，穿戴实验服、手套和口罩，并分区域进行反应体系的配置、样品处理与加样和 PCR 扩增，避免交叉污染。



## 检测流程

### 1. 检测准备

- 1.1 穿戴实验服、手套和口罩进行操作。
- 1.2 规范检测操作，有条件的条件下，应分别在独立的制备区和扩增区进行操作。
- 1.3 从试剂盒中取出各组分试剂，室温融化颠倒混匀，短暂离心后置于冰盒上备用。

### 2. 反应体系配制

2.1 根据待测样品数量配制如下反应体系：

组分	单次反应体积 (μL)	N 次反应体积 (μL) *
GSDetect® Myco Mix A	11.5	N×11.5
GSDetect® Myco Mix B	12.5	N×12.5

\*: 建议每批实验都设置阴性对照和阳性对照，即 N=待测样品数量+2。

- 2.2 用移液器吹打混匀，并分装于八联管或 96 孔板中，每管吸取反应液 24 μL。
  - 2.3 吸取 1 μL Myco-Free Water 加入第一个反应管中，作为阴性对照。
  - 2.4 依次吸取 1 μL 待测样品分别加入其余反应管中。
  - 2.5 吸取 1 μL Myco-Positive Mix 加入最后一个反应管中，作为阳性对照。
- 注：步骤 2.3 至 2.5 应依次进行，即阳性对照必须最后一个加入。

### 3. PCR 扩增 (以 ABI 7500 设置为例)

- 3.1 设置探针检测模式为 Reporter: FAM, Quencher: NFQ-MGB, Passive reference: None。
- 3.2 设置扩增循环条件如下：

Hold	50°C 2 min	
Hold	95°C 5 min	
40 cycles	95°C 15 s	Collect Data: On
	60°C 34 s	

- 3.3 反应结束后仪器自动保存结果，自动设置 Threshold 值和分析 Ct 值。也可根据实际情况手动设置，Start 值可设为 3~15，End 值可设为 5~20，在 Log 图谱窗口设置 Threshold 值，使阈值线位于扩增曲线指数期且阴性对照的扩增曲线平直或低于阈值线。

### 4. 质量控制

- 4.1 阳性对照：FAM 检测通道有明显扩增曲线，Ct 值 < 32。阴性对照：FAM 检测通道无明显扩增曲线，Ct 值 ≥ 40。
- 4.2 不能同时满足 4.1 的质量控制要求时，应认定结果无效，检查反应体系和实验操作并排除污染等可能性后重新进行实验。

### 5. 结果判定

- 5.1 待测样品在 FAM 检测通道有明显扩增曲线，Ct 值 < 40，可判定待测样品为支原体阳性。
- 5.2 对结果存疑或怀疑阴性对照有污染（如有扩增曲线或 35 < Ct 值 < 40）时，可取 2 μL 待测样品进行复检，并手动设置 Threshold 值和分析 Ct 值，后根据 5.1 判定复检结果。