

Luminescent Mycoplasma Detection Kit

NBA-Glo™ 荧光素酶支原体检测试剂盒说明书

(L6001, L6002, L6003)

一. 产品描述

NBA-Glo™ 荧光素酶支原体检测试剂盒用于定性检测细胞培养中的支原体污染。95%以上的细胞培养中的支原体污染是由 *Mycoplasma fermentans*, *M. orale*, *M. pirum*, *M. hyorhinis*, *M. hominis*, *M. salivarium*, *M. arginine* 和 *Acholeplasma laidlawii* 支原体所导致。活支原体产生真核细胞不表达的激酶，这些激酶可以将 ADP 转化为 ATP。NBA-Glo™ 荧光素酶支原体检测试剂盒通过提供支原体激酶所需的 ADP 和其他底物使 ADP 转化为 ATP，并通过荧光素酶发光法检测转化的 ATP 来确认细胞培养中是否有支原体污染。该试剂盒能够快速检测包括以上八种和其他多种常见活支原体。

二. 产品组成

NBA-Glo™ 荧光素酶支原体检测试剂盒包含即用荧光素酶支原体检测试剂 1 瓶和荧光素酶支原体检测底物 1 瓶，规格如下：

目录号	规格	组分
L6001	10T	荧光素酶支原体检测试剂 0.5mL 荧光素酶支原体检测底物 0.1mL
L6002	25T	荧光素酶支原体检测试剂 1.25mL 荧光素酶支原体检测底物 0.25mL
L6003	50T	荧光素酶支原体检测试剂 2.5mL 荧光素酶支原体检测底物 0.5mL

三. 实验步骤

1. 待测细胞培养基样品准备

- 1) 从对数生长期的细胞培养中取 1mL 细胞培养基。
- 2) 细胞培养基室温离心 200g，5 分钟。将大约 800 μ L 培养基转到新的微管中，注意不要带入离下的细胞碎片。
- 3) 用以上准备的细胞培养基进行荧光素酶支原体检测。

2. 荧光素酶支原体检测

- 1) 取 50 μ L 细胞培养基样品加入 96 孔白色不透明细胞板。
- 2) 将荧光素酶支原体检测试剂和底物平衡到室温 (22°C-25°C)，轻摇混匀。
- 3) 加入 50 μ L 荧光素酶支原体检测试剂到 50 μ L 细胞培养基样品。
- 4) 振荡混匀 10sec，室温孵育 5min，读取荧光值 (读数 1)。
- 5) 加入 10 μ L 荧光素酶支原体检测底物。
- 6) 振荡混匀 10sec，室温孵育 10min，读取荧光值 (读数 2)。

3. 结果

读数 2 和读数 1 的比值用来判断是否存在支原体污染。

读数 2 和读数 1 的比值	结果解释和建议
< 1	无支原体污染
1-1.2	可能的支原体污染。隔离细胞，培养 24-48hr 后再次检测。
> 1.2	支原体污染

四. 运输和保存方式

干冰运输。-20°C 避光储存，有效期 12 个月。

五. 注意事项

1. 分装储存：按照说明书分装储存 (-20°C) 反应试剂，保证试剂的稳定性。
2. -20°C 避光储存的试剂冻融两次对测试结果无影响。
3. 从对数生长期的细胞培养中取样进行测试。新传代的细胞应在 24hr-48hr 之后取样测试。
4. 荧光素酶反应对温度变化敏感。试剂和测试样品需要平衡到室温 (22°C-25°C)，测试过程温度保持恒定 ($\pm 1^\circ\text{C}$)。
5. 本产品仅作科研用途。