



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)

产品编号	产品名称	包装
C0297S	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)	20次
C0297M	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)	100次

### 产品简介:

- 碧云天生产的Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (Myco-Lumi™ Luminescent Mycoplasma Detection Kit for Low Sensitivity Instrument), 简称Myco-Lumi™或MycoLumi™, 是一种通过化学发光法检测培养的细胞等生物材料中是否有支原体污染的试剂盒。
- Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)的用途与碧云天的同类产品Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用) (C0298)相同, 性能略有不同, 具体请参考下表。两种产品根据使用仪器的灵敏度对Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒进行了一定的改良, 使检测试剂盒更适合相应的检测仪器。在相同检测仪器条件下, Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)的读值更高, 一般为Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用) (C0298)的10-50倍, 所以Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)更适合于低灵敏度、相对低读值的化学发光仪, 例如Molecular Devices的SpectraMax® M3等仪器, 该类仪器的读值较低, 使用低灵敏度仪器专用的检测试剂盒可确保检测时可获得良好的化学发光读数。Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)也可用于高灵敏度的仪器, 此时读值比较高, 但对支原体的检测灵敏度略差一些, 即阳性样品的比值会低一些。而Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用) (C0298)更适合于高灵敏度、相对高读值的化学发光仪, 例如ThermoFisher的多功能酶标仪Varioskan Flash/Varioskan LUX等仪器, 该类仪器的读值较高, 使用高灵敏度仪器专用的检测试剂盒可使对于支原体的检测灵敏度更高。Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用) (C0298)与Lonza公司的MycoAlert™ Mycoplasma Detection Kit相似, 而Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)与Lonza公司的MycoAlert™ PLUS Mycoplasma Detection Kit相似。Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)对支原体的检测灵敏度略低于Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用) (C0298), 具体表现为阳性样品的比值会低一些, 但仍可满足常规的检测需求。两种试剂盒的比较和选择请参考下表:

产品编号	C0297	C0298
产品名称	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒 (低灵敏度仪器用)	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒 (高灵敏度仪器用)
适用仪器	低灵敏度、低读值的化学发光仪	高灵敏度、高读值的化学发光仪
代表性仪器	SpectraMax® M3 (Molecular Devices)	Varioskan Flash/Varioskan LUX (ThermoFisher)
试剂信号强度 (相同仪器条件下)	相对较高	相对较低
检测灵敏度	★★★★	★★★★★
产品稳定性	非常稳定	非常稳定
同类产品	MycoAlert™ PLUS Mycoplasma Detection Kit(Lonza)	MycoAlert™ Mycoplasma Detection Kit (Lonza)

- 支原体(Mycoplasma)是最小、最简单的原核生物。支原体有如下特征: 支原体无细胞壁结构, 所以针对细胞壁的许多常见的抗生素, 如青霉素或β-内酰胺类抗生素对支原体无效; 支原体大小介于细菌和病毒之间, 约为0.2-0.8μm, 所以部分支原体可通过0.22μm滤器, 常规的过滤对支原体无效; 很多支原体由于自身的生物合成能力有限而依靠宿主提供营养, 所以通常吸附或散落在细胞表面和细胞之间。支原体的这些特征使细胞培养过程中存在支原体污染的风险, 细胞的支原体污染已经成为一个世界性的普遍问题。支原体污染可能会严重影响细胞的状态, 使细胞的基因表达、代谢特征发生变化, 导致细胞生长减缓、分化和死亡异常, 严重影响细胞功能。这些影响因素会严重影响实验结果的可靠性、可重复性和一致性, 因此支原体污染的检测非常重要。
- 细胞培养过程中的细菌、酵母或霉菌污染在光学显微镜下可见, 但支原体污染在光学显微镜下通常不可见, 必须通过特定的检测方法进行检测。检测支原体污染的常用方法有支原体分离培养、ELISA、特殊的生化检测、PCR检测以及DNA荧光染色检测等。上述检测方法中, 大多操作步骤相对比较烦琐、灵敏性不高或所需时间较长。
- Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒是利用支原体特有酶的活性并通过ATP依赖的荧光素酶催化的发光反应进行检测, 通过比较检测试剂加入前后ATP量的变化来确定样品是否有支原体污染。整个检测过程只有两个步骤, 仅需约15分钟。第一步是在样品中加入支原体检测试剂A, 5分钟后进行检测, 读值为A, 此时检测的是样品中原有ATP的量; 第二步是加入支原体检测试剂B,

10分钟后进行检测，读值为B，此时如果样品有支原体污染，其特有的酶可以将支原体检测试剂B中的ADP转换为ATP，此时检测的就是原有的本底ATP量和由支原体特有酶催化新生成的ATP量的总和。通过计算读值B与A的比值就可以判断是否有支原体污染。如果比值大于1.2表示有支原体污染，比值越大说明污染程度越高，如果比值小于0.9说明没有支原体污染，如果比值介于0.9和1.2之间，建议原细胞(包含原培养液)继续培养24-48小时之后再测试一次。本试剂盒检测支原体的原理参考图1。

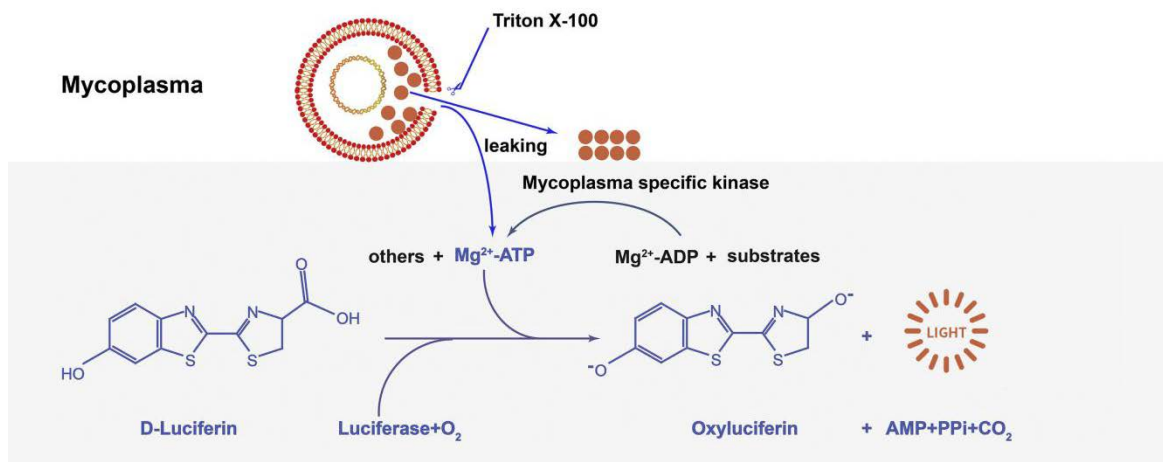


图1. Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒检测支原体的原理。细胞上清中如果含有支原体，加入支原体检测试剂A后会裂解支原体，支原体中的内容物释放，释放出的ATP以及细胞上清中的ATP会在荧光素酶催化下产生荧光信号；加入支原体检测试剂B之后，支原体中特有的酶可以使ADP转换成ATP，生成的ATP可以跟检测试剂中的荧光素酶反应，产生的荧光信号进一步增加。

- 本试剂盒可快速、有效、高灵敏度地检测支原体污染，在细胞培养过程中可随时取少量培养液上清监测是否有支原体污染。
- 本试剂盒荧光信号稳定性好，在加入支原体检测试剂A后，荧光信号稳定，在5分钟时即可检测；加入支原体检测试剂B后，如果是无支原体污染样品，原有荧光信号会有一定程度的下降，而如果是有支原体污染样品，荧光信号会随时间延长而增强，10分钟时即可检测。
- 如果发现支原体污染，建议更换无污染的细胞进行培养。如果有必要预防或去除支原体，可以使用专用的支原体预防或去除试剂(C0288、C0290、C0292、C0293)。
- 本试剂盒包含一定量阳性对照，检测更可靠、便捷。阳性对照不含支原体，无支原体污染风险。建议每次检测都设置阳性对照。阳性对照也可单独订购(C0299 Myco-Lumi™发光法支原体检测阳性对照)。
- 对于96孔板，推荐使用50μl细胞培养液或其它样品，此时本试剂盒C0297S包装可检测20个样品，C0297M包装可检测100个样品。

**包装清单：**

产品编号	产品名称	包装
C0297S-1	支原体检测试剂A	1ml
C0297S-2	支原体检测试剂B	1ml
C0297S-3	阳性对照	200μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
C0297M-1	支原体检测试剂A	5ml
C0297M-2	支原体检测试剂B	5ml
C0297M-3	阳性对照	0.5ml
—	说明书	1份

**保存条件：**

-20°C保存，一年有效；-80°C保存，两年有效。支原体检测试剂A (C0297S-1或C0297M-1)需避光保存。

**注意事项：**

- 对于首次使用本试剂盒，不确定仪器是低灵敏度或高灵敏度时，建议先订购C0298S，如果读数超过1万，基本是高灵敏度仪器，后续可选择C0297；或者同时订购C0297S和C0298S，进行实际比较后确定后续的选择。
- Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用) (C0297)也可用于高灵敏度的仪器，此时读值比较高，但对支原体的检测灵敏度略差一些，但Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用) (C0298)不建议用于低灵敏度仪器，此时读值可能会比较低，使检测出来的数据无法反映真实的支原体污染情况。

- 支原体检测试剂A中含有萤光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。尽管经测试反复冻融5次对于其检测效果无显著影响，为取得良好的使用效果，第一次解冻后可适当分装保存，但需注意分装的容器不能有ATP污染。反复冻融过程中，可能会导致检测试剂中出现少量沉淀，此时宜平衡至室温，并尽量溶解。如仍有残留的不溶物，可以离心去除后使用，经测试不会影响后续的检测效果。
- 阳性对照须避免反复冻融，可适当分装后保存。
- 检测时强烈建议使用白色96孔板，如果使用普通透明的96孔板，相邻孔之间可能会产生相互干扰。白色96孔板可向碧云天订购(FCP968 BeyoGold™全白96孔细胞培养板)。
- 当检测对象是细胞时，需正常培养细胞至少24小时以上，3-6天更佳，然后直接使用未经胰酶消化的细胞培养液上清作为样品；当检测对象是一些支原体含量极其微量的样品时，如细胞培养用的血清、胰酶、抗生素、培养液，最好经过2-3天的培养后再测试。培养时间过短，很可能会导致本产品无法检测出支原体污染。如果只能培养较短时间，建议尝试用支原体PCR检测试剂盒(C0301)或其它方法进行检测。
- 由于某些贴壁细胞培养液上清中有少量细胞或对于悬浮细胞的培养液，室温200×g离心5分钟后取上清检测，否则背景值会比较高。
- 检测时请在室温20-25℃左右进行，否则会影响检测效果。化学发光反应和支原体特异性酶催化的反应都受温度影响，检测试剂、检测样品都必须平衡至室温才可以进行检测。
- 人体皮肤表面有丰富的ATP，检测时请戴好手套，防止污染试剂。其它耗材也需洁净、无污染。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

### 1. 需要用户自己准备的器材：

- 化学发光仪(luminometer)或者具有检测化学发光功能的酶标仪、和酶标仪配套使用的化学发光检测专用的96孔板(白板)。
- 无菌离心管、枪头及移液枪。

### 2. 试剂和检测样品准备：

- 所有试剂使用前要平衡至室温，最适宜的温度是20-25℃。
- 检测样品准备：取0.2-1ml培养3-6天的细胞上清(培养时间较短的细胞上清也可以检测，但上清中释放的支原体较少，检测灵敏度会显著下降)，200×g (约1500rpm)离心5分钟以沉淀少量漂浮的细胞或细胞碎片，取上清。上清样品最好收集后立即检测，也可以在室温或4℃放置并当天检测，或者置于-80℃保存半年内检测。低温保存的样品检测的时候须室温融化并达到室温后才可用于检测。

### 3. 实验步骤：

- 在检测板中加入50μl的检测样品、阳性对照、阴性对照(如无菌水或PBS、新鲜培养液)。
- 加入50μl的支原体检测试剂A，混匀，20-25℃放置5分钟。然后用多功能酶标仪进行化学发光检测，即读值为A。请根据仪器要求设置相应的参数，每个孔的检测时间一般为0.25-1秒或更长时间，具体需根据仪器的检测灵敏度进行适当的调整。
- 加入50μl的支原体检测试剂B，混匀，20-25℃放置10分钟。然后用多功能酶标仪进行化学发光检测，即读值为B。注：请严格按照加入支原体检测试剂B后10分钟进行检测，切勿提前或延后，否则可能会影响比值在临界值附近样品的结果判断。
- 计算比值(Ratio)=读值B/读值A。参考表1，比值大于1.2说明有支原体污染，比值小于0.9表示没有支原体污染，比值在0.9-1.2之间可以将原样品继续培养24-48小时后重新检测。

表1. Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒的结果分析。

B/A比值	结果分析	处理方法
<0.9	支原体阴性，无支原体污染	无需处理，定期检测
0.9-1.2	临界值，结果较可疑	样品隔离培养24~48小时后再进行测试
>1.2	支原体阳性，有支原体污染	细胞灭菌处理后丢弃或隔离后用专用的支原体预防或去除试剂处理

备注1：有些样品如添加了特殊药物或使用某些特殊培养液，可能含有抑制或增强反应的成分而导致假阴性或假阳性，此时可以将样品稀释10倍后再进行检测，并进一步根据稀释后测定出来的B/A比值来判定是否有支原体污染。

备注2：本试剂盒可以检测出常见的44种支原体污染(具体见附录)，但是不能具体区分是何种支原体污染。如需鉴定污染支原体种类，请选用支原体PCR检测试剂盒(C0301)。

- 本试剂盒用ThermoFisher的多功能酶标仪Varioskan LUX检测一些常见样品的示例结果请参考表2。阳性对照(Positive Control)为试剂盒中提供的阳性对照，常用溶剂(Common Solvents)为超纯水(Water)和PBS，常用细胞培养液(Common Culture Medium)为RPMI-1640和DMEM，阳性样品(Positive Samples)为支原体污染的HeLa细胞培养上清(其中10倍稀释为按1:9用PBS稀释)，阴性样品(Negative Samples)为无支原体污染的BEAS-2B和293T细胞培养上清。本试剂盒提供的阳性对照，由于反复冻融导致部分失活等因素，实际测定出来的比值可能会和表2和图2中所列数据有较明显的偏差。而超纯水、PBS、RPMI-1640和DMEM检测出来的比值数据和所列数据会相对比较接近。实际测定出来的读值A和B，不同的仪器设备可能会有非常大的差别。

表2. Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)检测数据示例。注：ThermoFisher的多功能酶标仪Varioskan LUX为高灵敏度仪器，所以读值较高，实际在低灵敏度仪器中，读值可能在几十至上千。



样品	阳性对照	常用溶剂		常用细胞培养液		阳性样品		阴性样品	
	C0297S-3/ C0297M-3	超纯水	PBS	RPMI-1640	DMEM	HeLa 培养上清	10倍 稀释	BEAS-2B 培养上清	293T 培养上清
读值A	17975	26525	23925	23990	24390	36685	25550	24825	24960
读值B	197150	15865	14970	15910	15630	1662000	38265	16445	16760
比值(B/A)	10.97	0.60	0.63	0.66	0.64	4.53	1.50	0.66	0.67

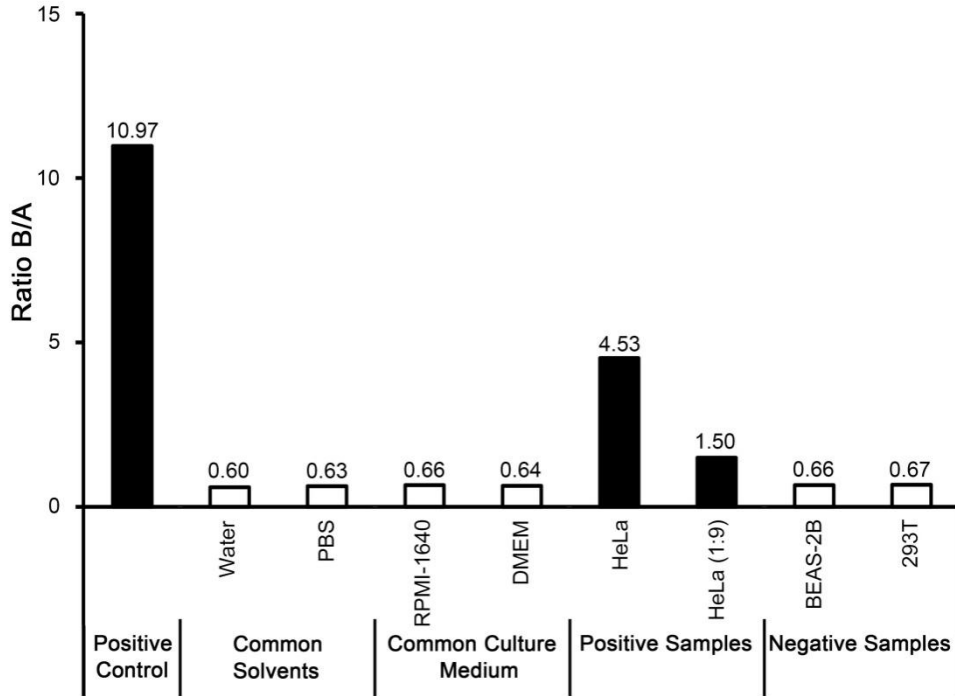


图2. Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)检测数据分析。实际读数和比值会因细胞种类、细胞培养液、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

附录：本试剂盒检测支原体种类参考表

Species	Origin/Source	Species	Origin/Source
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	Mammalian/Avian	<i>Mycoplasma gallinaceum</i>	Mammalian/Avian
<i>Acholeplasma modicum</i>	Bovine	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	Avian
<i>Acholeplasma morum</i>	Mammalian	<i>Mycoplasma genitalium</i>	Human
<i>Mesoplasma entomophilum</i>	Insect	<i>Mycoplasma hominis</i>	Human
<i>Mesoplasma florum</i>	Plant/Insect	<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	Human
<i>Mycoplasma agussizii</i>	Tortoise	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	Porcine
<i>Mycoplasma alkalescens</i>	Bovine	<i>Mycoplasma hyosynoviae</i>	Porcine
<i>Mycoplasma alligatoris</i>	Alligator	<i>Mycoplasma iguanae</i>	Iguana
<i>Mycoplasma arginini</i>	Bovine/Porcine	<i>Mycoplasma lipophilum</i>	Human
<i>Mycoplasma arthritidis</i>	Human	<i>Mycoplasma muris</i>	Murine
<i>Mycoplasma bovirhinis</i>	Bovine	<i>Mycoplasma neurolyticum</i>	Murine
<i>Mycoplasma bovis</i>	Bovine	<i>Mycoplasma opalescens</i>	Canine
<i>Mycoplasma bovoculi</i>	Bovine	<i>Mycoplasma orale</i>	Human
<i>Mycoplasma buccale</i>	Human	<i>Mycoplasma pirum</i>	Human
<i>Mycoplasma californicum</i>	Bovine	<i>Mycoplasma pneumonia</i>	Human
<i>Mycoplasma canadense</i>	Bovine	<i>Mycoplasma primateum</i>	Mammalian
<i>Mycoplasma cloacale</i>	Avian	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	Human
<i>Mycoplasma conjunctivae</i>	Ovine & Caprine	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	Rat
<i>Mycoplasma crocodyli</i>	Crocodile	<i>Mycoplasma salivarium</i>	Human
<i>Mycoplasma equirhinis</i>	Equine	<i>Mycoplasma spermatophilum</i>	Human
<i>Mycoplasma faucium</i>	Human	<i>Mycoplasma synoviae</i>	Avian
<i>Mycoplasma fermentans</i>	Human	<i>Spiroplasma citri</i>	Plant/Insect

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0288S	支原体清除试剂	20mg
C0288M	支原体清除试剂	100mg
C0290S	支原体清除试剂Plus	10mg
C0290M	支原体清除试剂Plus	50mg
C0292-2ml	支原体预防去除试剂I	2ml
C0292-10ml	支原体预防去除试剂I	10ml
C0293-2ml	支原体预防去除试剂II	2ml
C0293-10ml	支原体预防去除试剂II	10ml
C0296	支原体染色检测试剂盒	>100次
C0297S	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)	20次
C0297M	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(低灵敏度仪器用)	100次
C0298S	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用)	20次
C0298M	Myco-Lumi™发光法支原体检测试剂盒(高灵敏度仪器用)	100次
C0299S	Myco-Lumi™发光法支原体检测阳性对照	20次
C0301S	支原体PCR检测试剂盒	250次

## 使用本产品的文献:

1. Gang Chen, Yu Kong, You Li, Ailing Huang, Chunyu Wang, Shanshan Zhou, Zhenlin Yang, Yanling Wu, Jianke Ren, Tianlei Ying. A Promising Intracellular Protein-Degradation Strategy: TRIMbody-Away Technique Based on Nanobody Fragment. *Biomolecules*. 2021 Oct 14;11(10):1512.

Version 2024.03.12