



产品使用说明书

# Rhinogen<sup>®</sup> Myco-EXT<sup>™</sup> 支原体 DNA 提取纯化试剂盒 (磁珠法)

货号：RA-MT04



## 目 录

目 录 .....	1
产品信息 .....	2
试剂包装 .....	2
保藏条件 .....	2
产品综述 .....	3
背景 .....	3
概述 .....	3
操作方法 .....	4
所需设备 .....	4
自备试剂 .....	4
实验准备 .....	4
样本准备 .....	4
样本消化 .....	4
结合 .....	4
洗涤 .....	5
洗脱 .....	5
注意事项 .....	5
相关产品 .....	6
联系我们 .....	7

## 产品信息

**试剂包装** Rhinogen® Myco-EXT™ 支原体DNA提取纯化试剂盒（磁珠法）包装规格如下：

试剂组分	货号	规格
		50 T
裂解液 1	RA-MT04A	1.4ml*2vials
裂解结合液	RA-MT04B	14ml*2vials
洗涤液 A	RA-MT04C	11ml*1vial
洗涤液 B	RA-MT04D	11ml*1vial
磁珠悬浮液	RA-MT04E	1.4ml*2vials
洗脱液	RA-MT04F	6ml*1vial
稀释液	RA-MT04G	10ml*1vial

**保藏条件** 采用冰袋运输，收到产品后请将裂解液1（货号：RA-MT04A）立即置于2~8℃下储存，其他组分置于室温（15~25℃）存储，有效期为12个月。

## 产品综述

---

### 背景

支原体 (Mycoplasma) 是对支原体科、无胆甾原体科和螺原体科的原核微生物总称, 是已知可以自由生活的最小生物, 没有细胞壁, 形状多样可变, 直径一般是 0.1~0.3 $\mu\text{m}$ , 基因组A-T 含量高, 对常见的抗生素不敏感, 对热敏感。目前已从污水、植物、动物、禽类、昆虫、人、温泉或其他高温环境中发现 200 种左右支原体。

细胞如果受到支原体污染, 细胞生长速度变慢, 细胞产生病变或形态改变。连续培养细胞污染的概率大约15~35%, 主要来源于 20 多种支原体, 包括口腔支原体 (*M. orale*)、肺炎支原体 (*M. pneumoniae*)、发酵支原体 (*M. fermentans*)、精氨酸支原体 (*M. arginini*)、莱氏无胆甾原体 (*A. laidlawii*) 和猪鼻支原体 (*M. hyorhinitis*)。

---

### 概述

Rhinogen<sup>®</sup> Myco-EXT<sup>™</sup> 支原体DNA提取纯化试剂盒 (磁珠法) 采用特别修饰的氧化硅纳米磁性微球, 在独特缓冲体系和外加磁场的作用下, 可从复杂生物样本中提取微量 DNA 并纯化得到高纯度DNA。与本公司自主研发的支原体DNA 检测试剂盒 (荧光探针法) 配套使用, 定性检测主细胞库、工作细胞库、病毒种子批以及临床治疗用细胞中是否有支原体污染。

---

## 操作方法

<b>所需设备</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 金属浴或水浴锅</li> <li>✓ 荧光定量PCR仪</li> <li>✓ 迷你离心机</li> <li>✓ 高速离心机</li> <li>✓ 涡旋混合仪</li> <li>✓ 磁力架</li> <li>✓ 超净台</li> </ul>
<b>自备试剂</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ 100%异丙醇（分析纯）：32ml</li> </ul>
<b>实验准备</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、开启新试剂盒时需完成以下工作：               <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 向新开启的洗涤液A 中加入11mL 异丙醇，并在瓶子上作标记；</li> <li>2) 向新开启的洗涤液B 中加入11mL 异丙醇，并在瓶子上作标记。</li> </ol> </li> <li>2、每次实验前需预先完成以下工作：               <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 准备100%异丙醇；</li> <li>2) 准备水浴温度：70°C。</li> </ol> </li> </ol>
<b>样本准备</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、阴性对照（NCS）：每次实验中都需要用稀释液设置一个NCS 作为对照样品，NCS 与其他待测样品一起进行DNA 的提取和纯化操作，以评估在样品处理过程中各操作步骤是否正确、是否存在样品交叉污染或环境污染。制备步骤如下：取1.5ml 无菌低吸附离心管，加入500μl 稀释液，再加入10μl IC，混匀备用；</li> <li>2、待测样品：在提取支原体样品之前将IC 添加到样品中，可以作为整个实验过程的质控。制备步骤如下：取1.5ml 无菌低吸附离心管，加入500μl 样品，再加入10μl IC，混匀备用；</li> <li>3、若待测样品细胞总量小于<math>10^6</math>，可直接取500μl 样品进行提取；</li> <li>4、若待测样品细胞总量大于<math>10^6</math>，则取1mL 样品以<math>500\times g</math> 离心5min，取500μl 上清进行提取；</li> <li>5、若样品量不足500μl，则用稀释液补足至500μl 后，再进行提取。</li> </ol>
<b>样本消化</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、向离心管（自备）中加入500μl 样本，做好标记；</li> <li>2、加入50μl 裂解液1，充分涡旋混匀1min；</li> <li>3、70°C消化10 min。 <b>注：期间间隔2min 混匀1 次,使裂解消化更充分。</b></li> </ol>
<b>结合</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1、待样本消化完毕后，瞬时离心，待用；</li> <li>2、加入 250μl 裂解结合液，涡旋混匀 10s，瞬时离心；</li> <li>3、加入 50μl 磁珠悬浮液以及 300μl 异丙醇，充分涡旋混匀 5min，瞬时离心后待用； <b>注：磁珠悬浮液使用前请务必充分涡旋混匀，加样过程中间隔 2-3 个样本需将磁珠再次涡旋混匀，以保证每次加入的磁珠量的一致性。</b></li> <li>4、将离心管置于磁力架上至磁珠吸附完全，保持离心管固定于磁力架上，用移液器吸</li> </ol>

---

弃上清液，期间避免接触磁珠。

---

### 洗涤

- 1、将离心管从磁力架上取下，加入400 $\mu$ l 洗涤液A，充分涡旋混匀1min，瞬时离心后重新置于磁力架上磁性分离，待磁珠吸附完全后，保持离心管固定于磁力架上，用移液器吸弃上清液，期间避免接触磁珠；
  - 2、将离心管从磁力架上取下，加入400 $\mu$ l 洗涤液B，充分涡旋混匀1min，瞬时离心后重新置于磁力架上磁性分离，待磁珠吸附完全后，保持离心管固定于磁力架上，用移液器吸弃上清液，期间避免接触磁珠；
  - 3、为保证液体充分移除，需将离心管再次短暂离心30s，重新置于磁力架上磁性分离，待磁珠完全分离后，用10 $\mu$ l 移液器小心的将残余液体吸弃干净；
  - 4、从磁力架上取下离心管，打开管盖放置通风处干燥5min。
- 

### 洗脱

- 1、沿离心管壁加入100 $\mu$ l 洗脱液，充分涡旋混匀30s，瞬时离心后置于70 $^{\circ}$ C温浴7min，期间间隔2min混匀1次；
  - 2、孵育完成后，将离心管12000rpm 离心3min，然后静置于磁力架上，待磁珠分离后，用移液器小心转移溶液到干净的离心管中，所得液体即为样本纯化液。
- 

### 注意事项

- 1、磁珠悬浮液使用前严禁冷冻和离心，以免损伤磁珠，磁珠在使用前务必充分混匀；
  - 2、裂解结合液在低于10 $^{\circ}$ C时可能出现白色结晶，若出现沉淀，请37 $^{\circ}$ C水浴重新溶解后使用；
  - 3、请尽量在完成样本纯化处理当天进行后续的DNA 检测，以保证检测结果的准确性；
  - 4、请务必仔细阅读本试剂盒说明书，并严格按照操作步骤完成操作。
-

## 相关产品

产品名称	货号
MycoAlarm™ 支原体检测试剂盒	RA-MT01
Myco-Visal™ 一步法快速支原体检测试剂盒	RA-MT03
Myco-Acid™ qPCR 支原体检测试剂盒	RA-MT05
Myco-Acid™ PCR 支原体检测试剂盒	RA-MT06
Myco-EXT™ 支原体DNA自动化提取试剂盒（非预装）	RA-MT07
Myco-EXT™ 支原体DNA自动化提取试剂盒（预装）	RA-MT08

## 联系我们

---

如果您需要帮助，我们的客户支持专家可以通过电话和 email 为您提供帮助：

- 电 话：[0512-87663137](tel:0512-87663137)
  - 技术支持：[techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)
-



# RHINO BIO



上海瑞诺生物科技有限公司  
苏州瑞特佰生物科技有限公司  
网 址: [www.rhinobio.com](http://www.rhinobio.com)  
电 话: 0512-87663137  
邮 箱: [techserv@rhinobio.com](mailto:techserv@rhinobio.com)



公众号



联系客服

