

## Mycoplasma Stain Assay Kit

### 支原体染色检测试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1116A	支原体染色检测试剂盒	100T

#### 产品简介:

支原体染色检测试剂盒(Mycoplasma Stain Assay Kit)是经典的利用 DNA 荧光染色法在培养细胞中原位染色检测支原体或其它原核生物的试剂盒,主要用于检测培养细胞中是否存在支原体污染。其原理是利用荧光染料(bisbenzimidazole, Hoechst 33258)检测支原体污染。这种染料会结合到 DNA 的 A-T 富集区域,因为支原体的 DNA 中 A-T 含量高(55%~80%),所以可将其染色而被检测到。被支原体污染的细胞经染色后在细胞周围可看到许多大小均一的蓝色荧光小点,即为支原体的 DNA 染色斑,说明有支原体污染。

Hoechst 33258 的最大激发波长为 346nm,最大发射波长为 460nm;Hoechst 33258 和双链 DNA 结合后,最大激发波长为 352nm,最大发射波长为 461nm。本试剂盒的荧光染色可快速、有效、高灵敏度地检测支原体污染。本产品用于 6 孔板检测时,可以进行 100 次检测反应。悬浮细胞及组织切片均可以进行 100~150 次检测反应。

#### 产品组份:

产品编号	产品名称	规格	储存
BL1116A-1	固定液	50 ml	4°C
BL1116A-2	Hoechst 染色液	50 ml	-20°C
BL1116A-3	抗荧光淬灭封片剂	5 ml	4°C

#### 使用方法:

##### 一、贴壁细胞:

1. 取细胞爬片置于 6 孔板或其他培养板内,接种细胞培养至 50%~80%。
2. 吸尽培养液,加入 Hoechst 固定液 0.5ml,固定 10 分钟或更长时间(可 4°C 过夜)。
3. 去除固定液,用 PBS 或生理盐水洗 2 次,每次 3min,吸尽液体,洗涤时宜用摇床或手动晃动。
4. 加入 Hoechst 染色液 0.5~1ml 避光孵育 10~30 min,也可用摇床或手动晃动数次。
5. 弃染色液,PBS 或生理盐水洗 2 次,每次 3 min,吸尽液体,洗涤时宜用摇床或手动晃动。
6. 滴加适量抗荧光淬灭封片剂于载玻片上,盖上细胞爬片,让细胞接触封片剂,避免气泡。
7. 最大激发波长为 350nm,最大发射波长为 460nm,用荧光显微镜观察细胞膜或细胞周围是否有蓝色荧光小点或串珠状荧光小点。

##### 二、悬浮细胞:

1. 离心收集细胞样品于 1.5ml 离心管内并弃液,加入 Hoechst 固定液 0.5ml,缓缓悬起细胞,固定 10 min 或更长时间(亦可 4°C 过夜)。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。



2. 低速离心去除固定液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，洗涤时手动晃动数次。
3. 低速离心后吸去大部分液体保留约 50ul 液体，再缓缓悬起细胞，滴加至载玻片上，尽量使细胞分布均匀。
4. 稍晾干，使细胞贴在载玻片上不易随液体流动。
5. 均匀滴上 Hoechst 染色液 0.2~0.5ml 避光孵育 10~30 分钟，用吸水纸从边缘吸去液体，微晾干。
6. 弃染色液，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体，洗涤时宜用摇床手动。
7. 滴加适量荧光封片剂于载玻片上，盖上盖玻片，尽量避免气泡。荧光显微镜观察。

### 三、组织切片：

1. 常规包埋切片，用 PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，洗涤时手动晃动数次。
2. 均匀滴上 Hoechst 染色液 0.2~0.5ml，避光孵育 10~30 分钟。
3. 弃染色液，PBS 或生理盐水洗 2 次，每次 3min，吸尽液体，洗涤时宜用摇床或手动。
4. 滴加适量荧光封片剂于载玻片上，盖上盖玻片，尽量避免气泡。荧光显微镜观察。

### 染色结果：

阴性：仅见细胞的细胞核呈现蓝色或黄绿色荧光。

阳性：除细胞外，细胞膜或细胞周围可见大小不等、不规则的荧光着色颗粒。

当阴性结果与阳性结果均成立时，结果有效。

### 注意事项：

- 1、在为了获得细胞沉淀的离心的过程中，对于特殊细胞，如果细胞沉淀不充分，可以适当提高离心力或延长离心时间。
- 2、荧光染料都存在淬灭的问题，建议染色后尽快检测，使用时也应避光操作。
- 3、Hoechst 染色液避免反复冻融，否则容易失效。
- 4、Hoechst 染色试剂对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 5、固定液含有乙酸，有刺激性气味，宜在通风橱内进行固定操作。
- 6、检测支原体前最好用不含抗生素的培养液培养 2-3 代，这样更容易检测出支原体，因为一些抗生素可以抑制支原体生长。
- 7、检测支原体污染，可以使用支原体高效 Vero 细胞，这样可以提高检测灵敏度，即将被检测样品接种于 Vero 细胞进行检测。
- 8、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。
- 9、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 有效期：

-20℃保存，有效期一年。避免反复冻融。

