

KIT DE DETECÇÃO DE MYCOPLASMA POR PCR

Por favor, leia o manual cuidadosamente antes de usar

Cat. No. XP-500

Armazenamento: a -18°C ou menos por dois anos

Descrição:

O Kit de Detecção de Mycoplasma por PCR foi projetado para detectar a presença de contaminação por micoplasma em materiais biológicos, como células cultivadas. Primers altamente específicos foram projetados para amplificar um fragmento de DNA codificante do rRNA 16S que é conservado em todas as espécies de micoplasma comumente conhecidas. Este kit pode ser utilizado em sobrenadante de cultura celular sem a necessidade de extração do DNA. O kit apresenta operação simples, rápida, alta especificidade e alta sensibilidade. Pode detectar um total de 54 espécies de micoplasmas, incluindo *M. orale*, *M. pneumoniae*, *M. hyorhinitis*, *M. arginini*, *M. fermentans*, *M. salivarium*, *M. pirum*, *M. hominis*, *A. laidlawii*.

Características:

- Alta especificidade: Detecta apenas DNA de micoplasma, não DNA eucariótico ou bacteriano.
- Simples e fácil de usar: Não requer extração do DNA, adequado para testes de alta capacidade de amostras celulares.
- Controle positivo e negativo: Garanta confiabilidade e precisão dos resultados.

Conteúdo do Kit

Componente	Volume (para 100 reações)
PCR Mycoplasma Mix 2X	2x 750µl
Myco Primer Mix	200µl
Controle Positivo	100µl
Água	1ml

PROCEDIMENTOS DE USO

1. Tipos de amostra

(A) Sobrenadante de cultura celular coletado após 2–3 dias de cultura, soro animal, meio de cultura celular, etc.

(B) Para amostras de suspensão celular, recomenda-se centrifugar a suspensão e usar o sobrenadante para testes.

2. PCR

Para evitar contaminação por micoplasma exógeno, use máscara e luvas limpas e configure a seguinte reação de PCR em uma área designada para PCR. Cada experimento deve incluir tanto controle negativo (Água fornecida no kit) quanto controle positivo (fornecido no kit, como amostra).

Condições do PCR recomendados (tomando como exemplo reação de 30 µl)

Componente	Volume
Amostra ou Controle Positivo	5µl
PCR Mycoplasma Mix 2X	15µl
Myco Primer Mix	2µl
Água	8µl
Volume total	30µl

3. Programar o termociclador de acordo com as informações abaixo:

Temperatura	Tempo	Ciclos
95°C	4 minutos	1
95°C	10 segundos	35 ciclos
62°C	25 segundos	
72°C	10 segundos	
72°C	5 minutos	1

4. Eletroforese em gel de agarose

- Carregue 10 µl do produto de PCR em gel de agarose a 1,5% para eletroforese e analise os resultados da amplificação.

5. Interpretação do resultado

- Analise e confirme os resultados da contaminação por micoplasmas comparando com o controle positivo e negativo. O tamanho da banda positiva é cerca de 254 pb.

Obs: Se forem observadas bandas no controle negativo, isso pode indicar contaminação do sistema. Recomenda-se repetir o teste para confirmar os resultados.

Notas:

- Descongele e misture os reagentes cuidadosamente antes do uso.
- Antibióticos como penicilina, estreptomicina ou soro presentes em amostras de cultura celular não afetarão os resultados da detecção desse kit.
- Para obter o melhor resultado de detecção, utilizar células aderentes com aproximadamente 80% de confluência ou as células de suspensão em uma densidade de 10^6 células/ml.
- Durante todo o processo, por favor, siga rigorosamente os padrões operacionais da PCR em uma área designada para evitar contaminação cruzada.
- Ao configurar reações de PCR, use máscara, pois a cavidade oral contém micoplasma, que pode contaminar a amostra e causar falso positivo.
- Para garantir a confiabilidade e precisão dos resultados e atender aos requisitos de publicação dos principais periódicos, recomendamos que culturas celulares e reagentes de cultura celular sejam testados regularmente para contaminação por micoplasmas.

Contatos

- **Website:** www.genexplore.com.br
- **E-mail:** suporte@genexplore.com.br