

## MycoDetector™

### 支原体 DNA 提取试剂盒说明书

#### ❖ 试剂盒简介

支原体 DNA 提取试剂盒可用于提取纯化生物样品中的支原体 DNA，采用磁珠法，可提取微量支原体 DNA，与本公司研发的 MycoDetector™ 支原体检测试剂盒配合使用，可快速、高效的检测细胞培养过程中支原体污染。

#### ❖ 试剂盒组分

产品组成	50 preps	储存条件
裂解液	15 ml	常温
漂洗液 I	55 ml	常温
漂洗液 II	55 ml	常温
磁珠悬浮液	600 µl	0-4℃
洗脱缓冲液 TE	2.5 ml	常温
蛋白酶 K	1 ml	0-4℃

#### ❖ 实验所需但试剂盒中未含材料

- 无水乙醇
- 100%异丙醇
- 1000 µl、100 µl、10 µl 无菌低吸附滤芯枪头
- 1.5 ml、50 ml 无菌低吸附离心管

#### ❖ 需准备的设备

- 迷你离心机
- 磁性分离架
- 高速冷冻离心机
- 漩涡振荡器
- 恒温水浴锅
- 1000 µl、100 µl、10 µl 移液枪
- 生物安全柜

## ❖ 操作步骤

注意：使用前请先在漂洗液 I 和漂洗液 II 中加入无水乙醇，加入体积按照瓶子上的标签。

### ● 样品准备

1. 取 0.5-1 ml 的细胞培养液样品至 1.5 mL 的离心管中。
2. 21000 g 离心 20 min，弃上清，留沉淀。如不能立即进行 DNA 提取过程，应将样品存于-80℃，避免反复冻融。

### ● 样品 DNA 提取过程

1. 加入 300  $\mu$ l 裂解液和 10  $\mu$ l 蛋白酶 K，震荡混匀，75℃放置 15 min。
2. 加入 300  $\mu$ l 异丙醇和 10  $\mu$ l 磁珠悬浮液，震荡混匀，静置 5 min。注：磁珠在使用之前需从低温冰箱取出放置 30 min 进行平衡。
3. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
4. 加入 600  $\mu$ l 漂洗液 I，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
5. 加入 500  $\mu$ l 漂洗液 I，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
6. 加入 600  $\mu$ l 漂洗液 II，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
7. 加入 500  $\mu$ l 漂洗液 II，震荡混匀，将离心管置于磁力架静置 30 sec，待磁珠完全吸附后，小心吸去液体，将离心管置于磁力架上，室温晾干 10 min 左右。
8. 将离心管从磁力架上取下，加入 50  $\mu$ l 的洗脱缓冲液 TE，震荡混匀，56℃孵育 10 min，期间颠倒来回颠倒 3 次混匀。
9. 将离心管置于磁力架上，待磁珠完全吸附之后，将 DNA 溶液转移至新的离心管中，-20  $^{\circ}$ C 条件下保存。

❖ 操作简图

