

Mikoplazma teszt (Promo Kine kit)

Verzió szám: 01

Frissítés: 2018.12.06

Készítette: Mecsei Szabina

Ellenőrizte: Hegyesi Hargita

1. vegyünk 1 ml felülúszót
2. 500 g 5 percig fugáljuk (sejtmentesítés)
3. tegyük új csőbe
4. centrifugáljuk 14000 g –n 15 percig
5. a pelletet vegyünk fel 100 µl vízben (DNS RNS mentes)
6. tegyük 95 °C fokra 10 percre

A Kitben található mintacsövekbe mérjük 23 µl rehydration puffert
2 µl mintát mérjük hozzá
(negatív minta esetén 1 µl vizet vagy 2 µl sejtmentes médiumot használjunk)

Pozitív kontrol a rózsaszín csövek → ehhez szintén 2 µl víz szükséges, mivel a kontroll már a csőben van

Futtassuk meg PCR készüléken

95 °C 2 perc

94 °C 30 másodperc

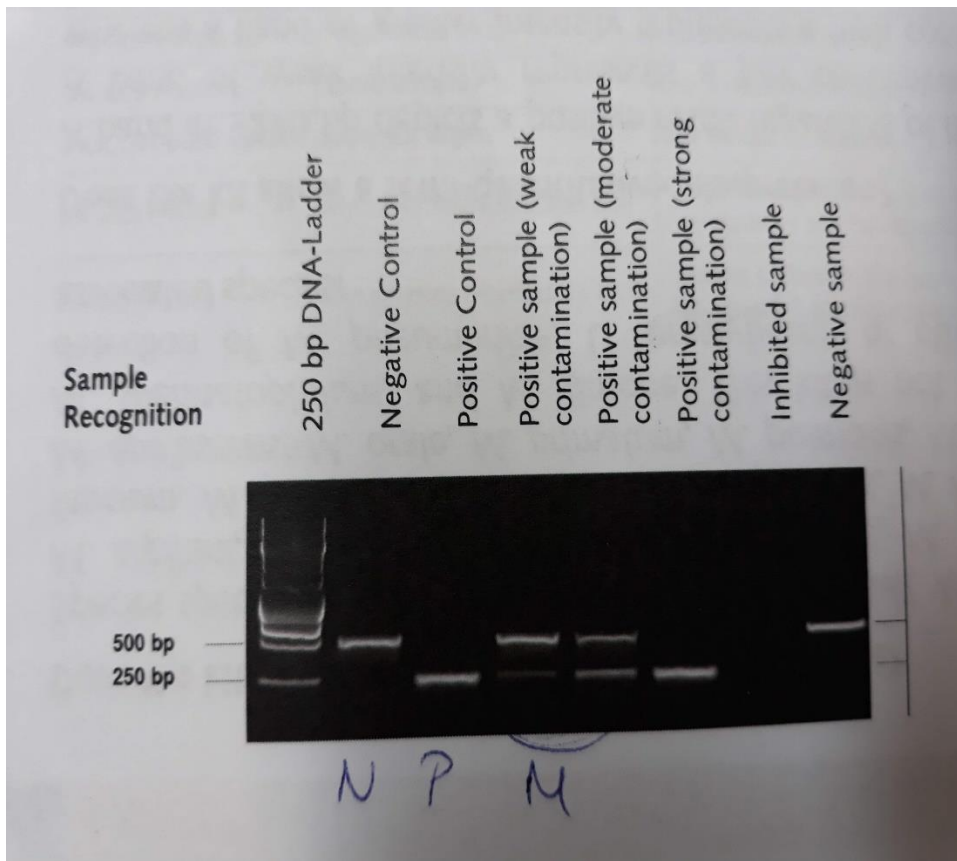
55 °C 30 másodperc

72 °C 40 másodperc

Majd a végén 4 °C

Futtassuk meg agaróz gélen

mintatípusok:



Mycoplasma teszt:

- Transfer 1 ml of cell culture supernatant to a mikocentrifuga tube
- Spin at 500 g 5 minute to pellet cellular debris
- pipet the supernatant to new mikrocentrifuga tube
- Centrifuga at 14 000 g 15 minutes
- Decant the supernatant and resuspend the mycoplasma pellet in 100 µl nuclease free water
- put the samples to 95 °C 10 minutes
- make a pcr mix
- In the Kitben we found pcr tube
- pipet to 23 µl Rehydration puffert
- pipet to 2 µl sample
- (negatív kontroll pipet to 2 µl nuclease free water or 2 µl cellfree medium)
-
- pozitív control (pink tube) → pipet 2 µl nuclease free water, (the pink tube include the + control)
- Run with PCR machine
- 95 °C 2 minute
- 94 °C 30 seconds
- 55 °C 30 seconds
- 72 °C 40 seconds
- incubate 4 °C
- agaroz gel run