

Applied Biosystems MycoSEQ支原体检测系统

- 快速获得结果，使得在线检测成为可能
- 检测超过90种的支原体
- 经过验证的灵敏度
- 经过证实的特异性
- 依据欧洲药典(5.8章2.6.7节)中用核酸扩增技术进行支原体检测的指导纲要设计



简介

支原体是目前已知的最小的非寄生生物。支原体有自我复制的能力，没有细胞壁，直径在0.15-0.3微米之间，是哺乳动物细胞培养中很常见的一种污染源。潜在的污染来源主要包括：用于细胞培养的原料、实验人员和暴露于受污染的细胞培养物等。目前的难点在于用传统的微生物技术很难，甚至是无法将其培养并检测出来。图1显示了通常情况下，在生物制药流程中需要支原体检测的几个环节。监管的指导原则是所有来源于哺乳动物细胞培养的制品都必须检测支原体的存在与否。目前，被监管部门接受的基于培养的检测方法需要28天。2007年7月，欧洲药典在5.8章2.6.7节中提出了用核酸扩增技术进行支原体检测的指导纲要，用以替代28天的培养法。

Applied Biosystems MycoSEQ 支原体检测系统

基于欧洲药典5.8章2.6.7节的推荐方法，Applied Biosystems公司采用实时定量PCR技术，开发了Applied Biosystems™ MycoSEQ™支原体检测系统。通过强大的生物信息学分析和高度优化的多重引物设计，该系统实现对支原体检测的高特异性，并且覆盖了大部分种。在检出支原体的同时能够排除其他有或者无亲缘关系物种的干扰。因为可以快速获得结果，使得最终产品能够更快地放行。细胞培养的在线监测也得以实现，从而在最早期发现潜在的污染，并防止污染物扩散到下游。

支原体检测采样点

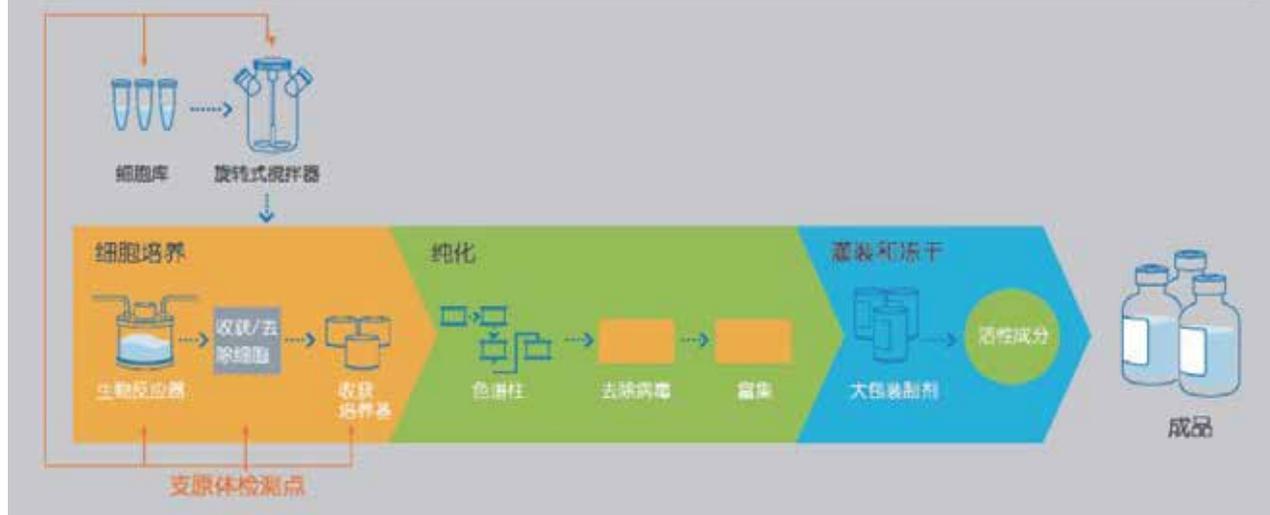


图1. 支原体检测采样点以一典型的生物制药企业生产流程为例。

MycoSEQ支原体检测系统包括：

- 强大的Applied Biosystems™ SYBR™ Green预混液
- 分析混合液
- 抑制对照
- 阳性对照
- 阴性对照
- 试验设定和结果分析的操作手册
- 推荐的样品制备方法

检测超过90种的支原体

为了准确检测支原体，试剂盒必须具有能够将所有已知支原体检测到种水平的能力，而不仅仅是检测常见的种。因此，Applied Biosystems公司通过使用强大的生物信息学分析方法用于设计扩增引物和反应条件，从而可以全面检测支原体、甾原体 and 螺原体。(表1)

经过验证的灵敏度

欧洲药典提供了用核酸扩增技术检测支原体的灵敏度要求，MycoSEQ支原体检测试剂盒正是基于满足这些要求而设计的。(图2)

经过证实的特异性

欧洲药典对用核酸扩增技术进行支原体检测的方法的特异性也提出了要求，即与支原体亲缘关系相近的细菌不能被检测出来。MycoSEQ支原体检测系统经过严格测试，被证实对支原体具有极强的特异性，不会受到其他亲缘关系相近的物种DNA的干扰。(表2)

表1. 可检测出以下支原体 (仅部分列出)

<i>Acholeplasma granularum</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma synoviae</i>
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	<i>Mycoplasma gypis</i>	<i>Mycoplasma testudinis</i>
<i>Acholeplasma pleciae</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Mycoplasma timone</i>
<i>Mycoplasma alkalescens</i>	<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	<i>Spiroplasma citri</i>
<i>Mycoplasma alvi</i>	<i>Mycoplasma imitans</i>	<i>Spiroplasma endosymbiont</i>
<i>Mycoplasma anseris</i>	<i>Mycoplasma indiane</i>	<i>Spiroplasma insolitum</i>
<i>Mycoplasma arginini</i>	<i>Mycoplasma lagogenitalium</i>	<i>Spiroplasma kunkelii</i>
<i>Mycoplasma auris</i>	<i>Mycoplasma lipofaciens</i>	<i>Spiroplasma melliferum</i>
<i>Mycoplasma buccale</i>	<i>Mycoplasma mobile</i>	<i>Spiroplasma mirum</i>
<i>Mycoplasma californicum</i>	<i>Mycoplasma molare</i>	<i>Spiroplasma phoeniceum</i>
<i>Mycoplasma canadense</i>	<i>Mycoplasma mycoides</i>	<i>Spiroplasma poulsonii</i>
<i>Mycoplasma capricolum</i>	<i>Mycoplasma neurolyticum</i>	<i>Spiroplasma sp.</i>
<i>Mycoplasma caviae</i>	<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Mycoplasma bovirhinis</i>
<i>Mycoplasma collis</i>	<i>Mycoplasma phocidai</i>	<i>Mycoplasma bovis</i>
<i>Mycoplasma cricetuli</i>	<i>Mycoplasma pirum</i>	<i>Mycoplasma bovirhinis</i>
<i>Mycoplasma equirhinis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma canis</i>
<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Mycoplasma felis</i>
<i>Mycoplasma gallinaceum</i>	<i>Mycoplasma simbae</i>	<i>Mycoplasma fastidiosum</i>
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	<i>Mycoplasma sp</i>	<i>Mycoplasma muris</i>
<i>Mycoplasma gateae</i>	<i>Mycoplasma spumans</i>	<i>Mycoplasma pulmonis</i>

表1. 可检测出的支原体(仅列出mycoSEQ支原体检测试剂盒可以检测的部分种)。在种级别, 可检测超过90种的支原体, 包括莱氏无胆甾原体(*Acholeplasma laidlawii*), 柑橘螺原体(*Spiroplasma citri*)和其他欧洲药典中规定的种。常用于检测和有效性验证的菌种加粗显示。

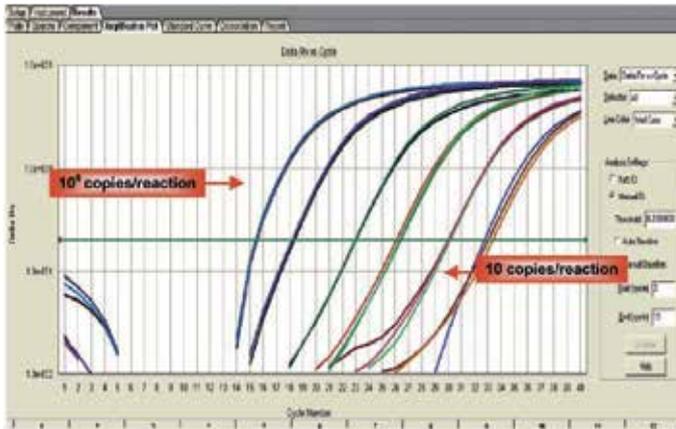


图2. 经过验证的灵敏度。mycoSEQ支原体检测试剂盒的灵敏度可以达到低于10CFU/ML。

快速获得结果使得在线检测成为可能

MycoSEQ支原体检测系统操作简单, 可以在四小时内得到结果(图3)。这就使得在最早期检测到污染成为可能, 从而保护生产过程、设备、原材料及产品。

关键性包括:

- 广泛的样品体积范围: 100µl-10ml 的细胞培养物, 细胞数可多达 10^8 个;
- 完整的实验操作指南;
- 特定的样品制备方法, 有效消除高浓度细胞造成的背景干扰;
- 一步法检测;
- 上样、运行自动化完成;
- 不需要琼脂糖凝胶电泳;
- 极低的实验设备和空间要求;
- 检测通量范围灵活;
- 优化的工作流程为日常检测提供高水平的准确性和灵敏度

独特的设计

独特的引物设计和检测试剂的独特配比确保了MycoSEQ支原体检测系统的极高品质。

表2 可排除以下物种被检测（仅部分列出）

Human DNA	<i>Escherichia coli</i>
Chinese Hamster Ovary (CHO)	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Mitochondrial DNA	<i>Micrococcus luteus</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Clostridium sporogenes</i>
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>

对支原体有高度特异性。使用MycoSEQ支原体检测系统，其他物种DNA无论是否存在亲缘关系，均不会被检测出。



图3. MycoSEQ支原体检测系统可在4小时内获得结果, 可用于在线检测和终产品检测。

订购信息

货号	描述	规格
4460623	MycoSEQ支原体检测试剂盒(带阳性对照)	100 rxns
4460626	MycoSEQ支原体检测试剂盒(带阳性对照和样品制备)	100 rxns
4365464	Applied Biosystems 7500快速实时PCR系统	1 Instrument
4443420	AccuSEQ 2.0 实时定量PCR检测软件	1 Software



赛默飞
官方微信



赛默飞
生物工艺

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982
 销售服务信箱: sales.china@thermofisher.com
 技术咨询信箱: BioProduction-CNTS@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC