

BioMycoX[®] Mycoplasma Elimination Kit

(Light, Medium, Heavy contamination)

Cat. No. E-01, E-02, E-03

Storage Temperature 4-8°C

1. 제품 설명

세포배양에서 마이코플라스마의 오염은 일반적인 현상이지만 바이오의약품을 생산하는 제약회사나 연구결과를 중요시 하는 연구실에서 그 심각성은 매우 크다. 마이코플라스마 오염은 실험결과와 질과 생산성뿐만 아니라 재현성도 감소시키며, 생물학적 제제의 생산효율과 제품의 질을 떨어뜨리는 주요 원인이 된다.

현재 세포배양시 오염된 마이코플라스마를 제거하는 방법으로 가장 많이 사용되는 항생제 사용법은 오염된 마이코플라스마의 완전한 제거 보다는 성장을 억제하고 비활성화 시키는 수준으로 성공적인 마이코플라스마 제거 목적을 달성하지는 못한다.

더욱이 마이코플라스마를 제거하는 농도의 항생제 사용은 세포독성을 유발하고 세포대사를 교란할 수 있으며, 또한 장기간 사용은 세포 내 항생제 축적을 수반하여 세포 표현형을 변화시킬 수 있고, 항생제 내성 문제를 야기할 수 있다.

본 제품은 이러한 문제점 없이 마이코플라스마 감염된 세포에서 마이코플라스마를 쉽고 빠르게 제거하여 본래의 세포주 특성을 되찾게 해준다.

2. 제품 특징

본 제품에 주요 성분인 BioMycoX[®]는 기존 항생제와는 달리 선택적으로 마이코플라스마를 제거하는 기능을 하는 biological reagent로서 독성이 없고 항생제와 병용하여 세포배양 시 오염되는 마이코플라스마를 효과적으로 제거 할 수 있는 강력한 기능을 갖는다. BioMycoX[®]는 기존 항생제 처리처럼 세포독성 및 내성문제를 야기하지 않으며, BioMycoX[®] 처리로 마이코플라스마가 제거된 세포는 곧 본래 특성을 회복하게 된다. BioMycoX[®] Mycoplasma Elimination Kit 는 세포배양 및 바이러스 배양 중 오염되는 모든 종류의 Mollicutes 관련 속 (Mycoplasma, Acholeplasma, Spiroplasma, Ureaplasma and Entomplasma) 모두를 제거할 수 있다.

3. Kit 구성

Cat. No	E-01	E-02	E-03
	Light contamination	Medium contamination	Heavy contamination
BioMycoX Reagent I (green cap)	200 μ l	200 μ l X 2	200 μ l X 3
BioMycoX Reagent II (blue cap)	200 μ l	200 μ l X 2	200 μ l X 3
Cell strainer	2 개	4 개	6 개

4. 마이코플라스마 제거 방법

	Elimination 횟수
Light contamination	2회
Medium contamination	4회
Heavy contamination	6회
1회 Elimination 마다 reagent I, II 각 100 μ l씩 사용	

- 1) 마이코플라스마 감염이 확인된 세포를 준비한다.
- 2) 80~90% confluent 자란 세포를 trypsin-EDTA 를 사용하는 일반적인 방법으로 세포를 떼어낸 후, 10 ml 배지를 사용하여 잘 현탁하여 15 ml conical tube 에 옮긴다.
- 3) 현탁한 세포를 1,000 rpm 에서 5 분간 원심분리하고 상층액을 제거한다.
- 4) 10 ml 배지(5% FBS 포함)*를 첨가하여 세포를 잘 현탁 한 후 제품에 포함된 cell strainer 를 50 ml conical tube 위에 올려 놓은 후 세포현탁액을 통과시키고 세포수를 약 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cells/ml 이 되도록 한다. *5% FBS 배지를 반드시 사용하여야 함. 5% 이상에서는 효과가 저하됨.
- 5) 위 세포현탁액(10 ml)*에 BioMycoX[®] Reagent I, 100 μ l 를 첨가하고 바로 BioMycoX[®] Reagent II, 100 μ l 을 동시에 첨가한 후 잘 혼합하여 준다. *10 ml 이 되도록 하며, 부족할 경우 5% FBS 배지를 사용하여 10 ml 이 되도록 한다.
- 6) 혼합액을 T75 culture flask 또는 100 cm² dish 에 옮긴 후 CO₂ 배양기에서 3 일간 배양한다.
- 7) 3 일 배양 후 세포가 계대 배양이 필요하지 않고 성장이 느린 경우 8)~9)항에 따라 진행한다. 세포가 계대 배양 할 정도로 많이 자란 경우 10)~14) 항에 따라 진행한다.
- 8) 3 일 배양 후 배지를 걸러내고 새로운 10 ml 의 5% FBS 배지를 추가 한다.
- 9) BioMycoX[®] Reagent I, 100 μ l 를 첨가하고 바로 BioMycoX[®] Reagent II, 100 μ l 을 동시에 첨가한 후 잘 혼합하여 CO₂ 배양기에서 3 일간 배양한다.
- 10) 배지를 제거하고 세포를 trypsin-EDTA 를 이용하는 일반적인 방법으로 세포를 떼어낸 후 10 ml 배지를 이용하여 잘 현탁하여 15 ml tube 에 옮긴다.
- 11) 현탁한 세포를 1,000 rpm 에서 5 분간 원심분리하고 상층액을 제거한다.
- 12) 10 ml 배지(5% FBS 포함)를 이용하여 세포를 잘 현탁한 후, 섞어준다.
- 13) 위 세포현탁액(10 ml)에 BioMycoX[®] Reagent I, 100 μ l 를 첨가하고 바로 BioMycoX[®] Reagent II, 100 μ l 을 동시에 첨가한 후 잘 혼합하여 준다.
- 14) 혼합액 10 ml 을 T75 culture flask 또는 100 cm² dish 에 옮긴 후 CO₂ 배양기에서 3 일간 배양한다.
- 15) 3 일 배양 후 일반적인 방법으로 계대배양 후 BioMycoX[®] Mycoplasma PCR Detection Kit 또는 HiSense[™] Mycoplasma PCR Detection Kit 를 이용하여 오염된 마이코플라스마 제거 여부를 확인한다.

* Medium 또는 Heavy contamination 인 경우

- 2)항 부터 14)항까지 연속적으로 1 회 또는 2 회 반복하여 처리한다.

5. 관련제품

BioMycoX[®] Mycoplasma PCR Detection Kit
Cat. No. D-25, D-50, D-100

HiSense[™] Mycoplasma PCR Detection Kit
Cat. No. HD-25, HD-50, HD-100

CryoBanker[™] Cell Freezing Medium
Cat. No. CB-50, CB-100

BioMycoX[®] Mycoplasma Prevention Spray
Cat. No. P-1000 (1L)