

Myco-Read™ Mycoplasma PCR Detection Kit

(SMD0172/3, 50/100 tests, Store at -20°C)

개요

Myco-Read™ Mycoplasma PCR Detection Kit는 PCR을 통하여 배양된 Cell로부터 Mycoplasma의 오염 여부를 검증하기 위한 목적으로 만들어진 제품입니다. Mycoplasma는 현미경으로 관찰이 어려워 감염 여부를 판별하기 쉽지 않으며, 일단 감염이 되면 Cell 성장 및 염색체 이상, 세포의 형태에 영향을 끼칩니다. Myco-Read™ Mycoplasma PCR Detection Kit는 분자생물학적 중 분류 방법인 16S rRNA를 이용하는 방식으로, 분류하고자 하는 종의 16S rRNA Sequence의 Primer를 사용하여 PCR을 통해 약 8속 209종의 Mycoplasma를 확인할 수 있습니다. 바이오맥스의 Myco-Read™ Mycoplasma PCR Detection Kit는 Mycoplasma의 PCR Detection에 필요한 모든 Components를 포함하고 있으며 사용자가 편리하게 사용할 수 있게 마련된 제품입니다.

제품의 구성 및 보관 조건

Components	SMD0172 (50 tests)	SMD0173 (100 tests)	Storage
2X PCR Master Mix (with loading dye)	500 μ l	1000 μ l	-20 °C
Primer Set	100 μ l	200 μ l	
Positive Control	50 μ l	100 μ l	
Ultra Pure Water	500 μ l	1000 μ l	

* 개봉하지 않은 제품은 -20°C 보관 시 약 1년간 안정적입니다.

- ▶ Pipette & Sterile tips
- ▶ Micro centrifuge
- ▶ Heat block (98°C)

- ▶ PCR machine and PCR tube
- ▶ Gel Electrophoresis
- ▶ Microtube

Sample preparations

Cell pellet

- ① Mycoplasma의 감염여부를 확인하려는 세포 (>5 x 10⁴ Cells)를 Harvest하여 Microtube에 옮깁니다.
- ② Micro centrifuge로 10~15 sec 간 원심분리 후 상층액을 버립니다.
- ③ Autoclaved PBS 1 ml로 Cell pellet을 Resuspension 해줍니다.
- ④ Micro centrifuge로 10~15 sec 간 원심분리 후 상층액을 버리고 Autoclaved PBS 100 μ l를 넣고 Resuspension 해줍니다.
- ⑤ Microtube를 98°C 에서 10 min 간 끓인 뒤 5~10 sec 간 Vortexing 해줍니다. 12,000 rpm으로 10 min 간 원심 분리 후 상층액을 새로운 Microtube로 옮겨 사용합니다.

Cell media

- ① Mycoplasma 감염 여부를 확인하려는 세포를 약 24h 이상 배양합니다.
- ② 세포 배양액 2 ml을 microtube에 옮깁니다.
- ③ 1,500 rpm에서 5 min 간 원심분리 후 상층액 1 ml을 새로운 Microtube에 옮깁니다.
- ④ 12,000 rpm에서 10 min 간 원심분리 후 상층액을 제거합니다.
- ⑤ Autoclaved PBS 100 μ l 넣고 Vortexing 합니다.
- ⑥ Vortexing 한 Microtube 를 98°C 에서 10 min 간 끓인 뒤 12,000 rpm 으로 5 min 간 원심 분리 후 상층액 50 μ l를 새로운 Microtube 로 옮겨 사용합니다.

실험 과정

① 아래의 Reaction condition를 참고하여 PCR tube 에 각각 분주합니다.

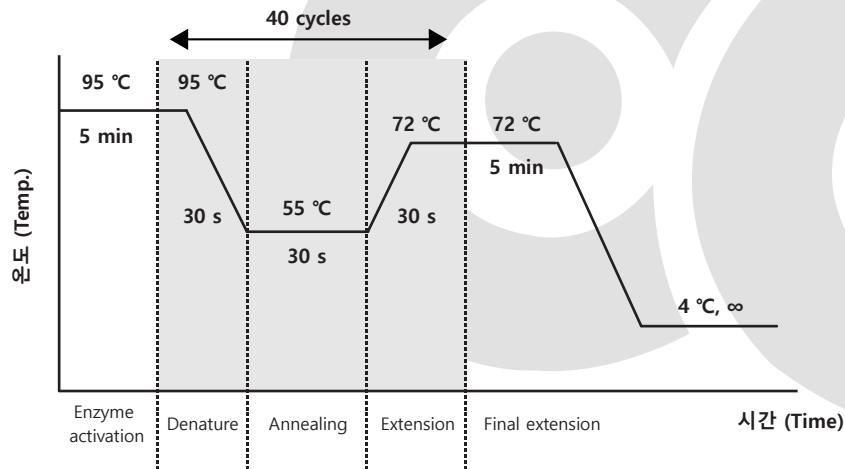
Reaction condition

Sample	2-5 μl * Positive Control 2 μl
Prime Set	2 μl
2X PCR Master Mix	10 μl

Up to 20 μl with Ultra Pure Water

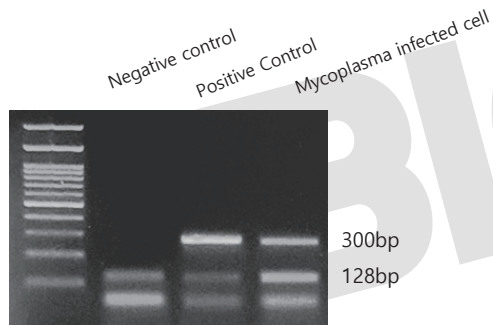
② 아래의 PCR Amplification을 참고하여 PCR를 진행합니다.

PCR Amplification



③ 2 % Agarose gel에 Loading하여 확인합니다.

결과 분석



* Mycoplasma positive: Double band (128, 300 bp)

* Mycoplasma negative: One band (128 bp)

* PCR error: One band (300 bp)

Trouble-Shooting guide

① **Mycoplasma 감염이 확실한데도 불구하고 밴드가 보이지 않습니다.**

- Positive Control를 확인합니다.
- Template의 농도를 확인합니다. 제품을 수행하기에 앞서 세포는 최소 24 h 배양 되어야 합니다.
- PCR Machine을 확인합니다. 간혹 기계 작동에 오류가 있거나 잘못된 Set-up 조건으로 수행될 수 있습니다.

② **PCR 수행 지표 (128 bp)에서 밴드가 보이지 않습니다.**

- 2X PCR Master Mix를 반복하여 냉동 및 해동 할 경우, PCR 수행이 제대로 되지 않을 수 있습니다.
- 제품의 보관 온도를 확인하시길 바랍니다.
- Mycoplasma의 감염율이 너무 높은 경우, 보이지 않는 경우도 있습니다. 이는 Primer set가 Sample에 전부 달라 붙어 밴드가 보이지 않는 경우 입니다.

③ **Negative control에서 밴드가 나왔습니다.**

- D.W. 또는 PBS의 오염이 의심됩니다. 새로운 D.W. 또는 PBS를 사용하여 실험을 재진행 합니다.
- 실험 환경이나 기구 오염이 의심됩니다. 깨끗이 세척 후, 실험을 재진행 합니다.

Related products

SMD022	Myco-Guard™ Mycoplasma Elimination Reagent
SMD022P	Myco-Guard™ PLUS Mycoplasma Elimination Reagent
BMW001	Myco-Free Lab™ Germicidal Wipes-R
BHC002	Happy Cells+
SHR001	Happy RNA
SLC001	Happy Clean

* 안전한 사용을 위해 유해물질 정보는 MSDS를 참조하십시오.