

## Dyne Mycoplasma Detection Kit (PCR)

(GBM-D25/D50/D100, 25/50/100 tests, Store at -20℃)

### 개요

Dyne Mycoplasma Detection Kit는 배양된 Cell을 PCR을 통하여 Mycoplasma의 오염 여부를 검증하기 위한 목적으로 만들어진 제품입니다. Mycoplasma는 현미경으로 관찰이 어려워 감염 여부를 판별하기 쉽지 않으며, 일단 감염이 되면 Cell 성장 및 염색제 이상, 세포의 형태에 영향을 끼칩니다. Dyne Mycoplasma Detection Kit는 분자생물학적 종 분류 방법인 16S rRNA를 이용하는 방식으로, 분류하고자 하는 종의 16S rRNA sequence의 primer를 사용하여 PCR을 통해 약 8속 209종의 mycoplasma를 확인할 수 있습니다.

Dyne Mycoplasma Detection Kit는 Mycoplasma의 PCR Detection에 필요한 모든 Components를 포함하고 있으며 사용자가 편리하게 사용할 수 있게 마련된 제품입니다.

### 제품의 구성 및 보관 조건

Cat No.	Components	Size	Storage
GBM - D25/D50/D100	2x PCR Master Mix (with loading dye)	250/500/1000 $\mu\text{l}$	-20 $^{\circ}\text{C}$
	Primer set	50/100/200 $\mu\text{l}$	-20 $^{\circ}\text{C}$
	Mycoplasma Positive Control	25/50/100 $\mu\text{l}$	-20 $^{\circ}\text{C}$
	ddH <sub>2</sub> O	250/500/1000 $\mu\text{l}$	RT

▶ -20℃에 보관 시 약 1년간 안정합니다.

### 검사 필요 장비 및 소모품

- 1) Pipette, Sterile pipette tips
- 2) PCR machine and PCR tube
- 3) Gel Electrophoresis

### 실험 프로토콜

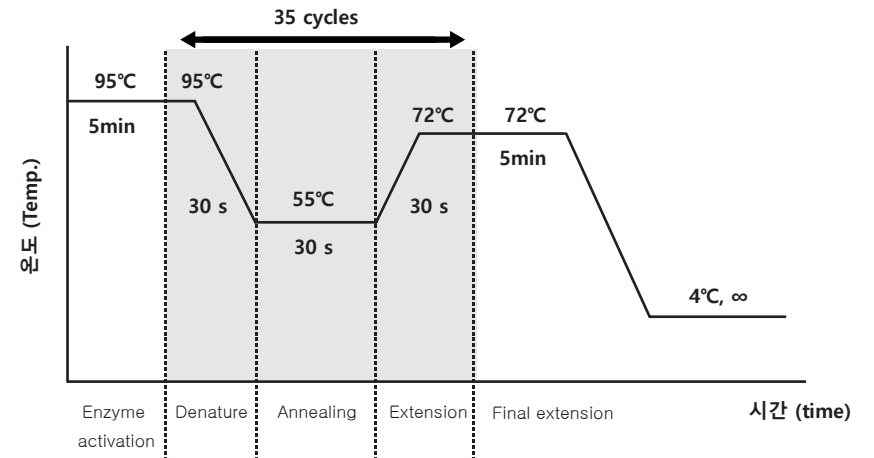
#### 1) Sample preparations

- 1) Mycoplasma의 감염여부를 확인하려는 세포 배양액 2 ml를 tube에 옮긴다.
- 2) 1,500 rpm에서 5분간 원심분리 후 상층액 1 ml를 새로운 tube로 옮긴다.
- 3) 12,000 rpm 에서 10분간 원심분리 후 상층액을 제거한다.
- 4) 멸균 증류수 100  $\mu\text{l}$ 를 넣고 vortexing한다.
- 5) Tube를 98℃ 에서 10 분간 끓인 뒤 12,000 rpm 으로 5분간 원심 분리 후 상층액 50  $\mu\text{l}$ 를 새로운 tube로 옮겨 담는다.

#### 2) Reaction condition

Sample	2-5 $\mu\text{l}$
Prime Set	2 $\mu\text{l}$
2X PCR master Mix	10 $\mu\text{l}$
Ultra pure water	Up to 20 $\mu\text{l}$
<hr/>	
Total	20 $\mu\text{l}$

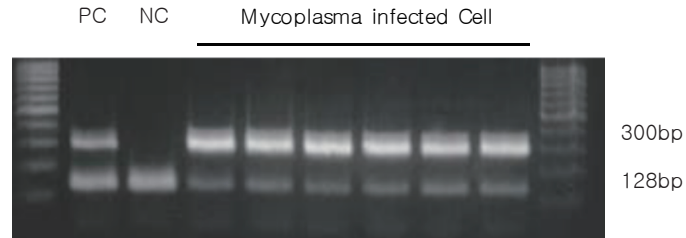
#### 3) Set-up , PCR Amplification



#### 4) PCR 수행 후, 2 % agarose gel에 loading하여 확인

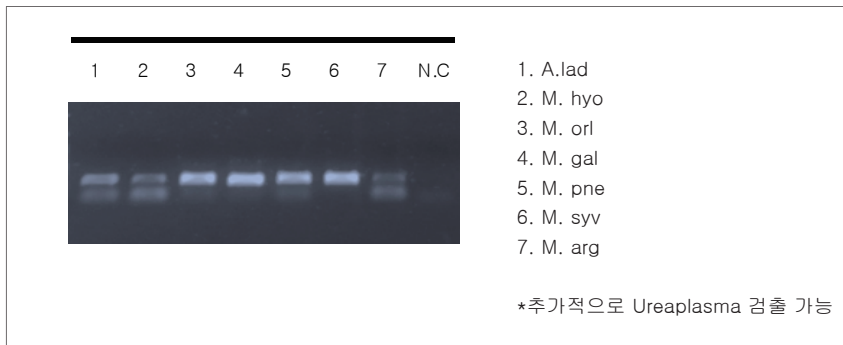
## 결과 분석

Internal control DNA 는 128 bp, mycoplasma는 300 bp 에서 확인할 수 있습니다. 따라서 감염 sample은 128, 300 bp의 double band, 감염되지 않은 sample은 128 bp band 만이 관찰됩니다.



- \* Mycoplasma Positive: Double band (128, 300bp)
- \* Mycoplasma Negative: One band (128bp)
- \* PCR error: One band (300bp)

## Detectable Mycoplasma Strains



## Trouble-Shooting guide

### 1) Mycoplasma 감염이 확실한데도 불구하고 밴드가 보이지 않습니다.

- Positive control을 확인하십시오.
- Template의 농도를 확인하십시오. 제품을 수행하기에 앞서 세포는 최소 24 hr 배양 되어야 합니다.
- PCR machine을 확인하십시오. 간혹 기계 작동에 오류가 있거나 잘못된 Set-up 조건으로 수행될 수 있습니다.

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

- Master Mix를 반복하여 냉동 및 해동 할 경우, PCR 수행이 제대로 되지 않을 수 있습니다.
- 제품의 보관 온도를 확인하십시오.
- Mycoplasma의 감염율이 너무 높은 경우, 보이지 않는 경우도 있습니다. 이는 Primer set가 sample에 전부 달라 붙어 밴드가 보이지 않는 경우입니다.

### 3) Negative control에서 밴드가 나왔습니다.

- D.W의 오염이 의심됩니다. 새로운 D.W를 사용하여 실험을 재진행 하십시오.
- 실험 환경이나 기구 오염이 의심됩니다. 깨끗이 세척 후, 실험을 재진행 하십시오.

## Related Products

- GBM-RP200                      Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent, 0.5 ml X 4 vials
- GBM-R500                        Dyne Mycoplasma Removal Reagent, 1 ml X 5 vials
- GBR-1000                         Dyne Rnase-Free Solution, 500 ml X 2 ea
- GBS-500                          Dyne Perfect Lab Sanitizer, 500 ml
- GBA-250                          Dyne AquaClean Solution, 250 ml