

## Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent

(GBM-RP200, 0.5 ml X 4 vials, Store at -20 °C/4 °C)

### 개요

Mycoplasma는 세포벽이 결여 (cell wall-less) 되어 있는 매우 작은 세균입니다. 이러한 특징 때문에 세포 배양을 위한 시설 대다수에 감염되어 있고, 일반적인 항생제로는 치료되지 않습니다. 학계에 의하면 배양 세포주의 약 80% 가량이 mycoplasma에 감염되어 있다고 보고되고 있습니다. Mycoplasma는 다른 감염 미생물(bacteria, fungi)과 달리 육안으로는 세포의 성장을 변화가 없는 듯 보이지만 감염 시 숙주세포의 DNA, RNA, Protein synthesis에 영향을 미쳐 세포의 염색체와 세포 원형질막 항원 등을 변형하게 됨으로 제약회사, 연구시설, biological product plants 등 세포 배양시설에서 큰 영향을 미칩니다.

Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent는 세포에 감염되는 다양한 종의 mycoplasma를 제거하기에 아주 효과적이며 일반적으로 쓰이는 제거 기작과 다른 기작을 사용하기 때문에 다수의 anti-mycoplasma agent들에 내성을 보이는 mycoplasma 제거에 특히 효과적입니다. 이 mechanism은 mycoplasma와 Gram (+) bacteria에 작용되며 진핵세포에는 작용하지 않습니다. 일반적으로 사용되는 항생제와 다른 기작으로 Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent를 사용할 시 세포의 성장이 느려질 수 있으나 Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent 제거 후 세포의 성장 속도는 정상으로 회복됩니다.

### 제품의 구성 및 보관 조건

Cat No.	Components	Size	Storage
GBM-RP200	Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent	0.5 ml X 4 vials	-20 °C/4 °C

- ▶ -20°C에 보관 시 약 1년간 안정합니다. 이 제품은 4°C에서도 보관 가능하며, 약 6개월간 안정합니다.
- ▶ Concentration: 50 mg/ml
- ▶ Type : Transparent solution

### 적용 프로토콜

- 1) Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent의 사용 농도: 500X~2000X 까지 희석이 가능  
항생제 투여 시, 세포의 상태를 확인하여 양을 조절 하여 사용 하는게 좋습니다.  
만약 세포가 심한 감염에 있다면, 세포의 상태가 매우 좋지 않으므로 사용 농도를 낮추어 (2000X 수준) 진행하는 것을 추천합니다.

Concentration	T25 flask (5 ml)	T75 flask (15 ml)	500 ml Media bottle
2000X (25 µg/ml)	2.5 µl	7.5 µl	250 µl
1000X (50 µg/ml)	5 µl	15 µl	500 µl
500X (100 µg/ml)	10 µl	30 µl	1 ml

### 2) Mycoplasma의 제거 (Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent 50 µg/ml 처리)

- a. Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent(50 mg/ml)를 1:1000으로 사용할 Culture media에 희석하여 사용합니다.
- b. 약 2~3주 동안 3~4일 간격으로 Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent를 1:1000으로 희석한 배지로 계대 배양합니다.  
(사용 시, 페니실린 및 스트렙토마이신과 혼용이 가능합니다)
- c. Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent의 처리 농도 (50 µg/ml)가 cell에 독성이 높게 나타난다면 사용 농도를 줄여 사용합니다.(25 µg/ml)
- d. 2주간 Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent를 cell culture에 사용 후, mycoplasma의 유무를 PCR 또는 cell base method를 이용하여 확인합니다.
- e. Mycoplasma detection assay 후 제거가 되지 않았다면 1주간 농도를 높여 (75 µg/ml) 1주간 더 처리합니다.

**Note.** 현미경으로 매일 cell의 상태를 관찰하는 것을 권장합니다.

### Trouble-Shooting guide

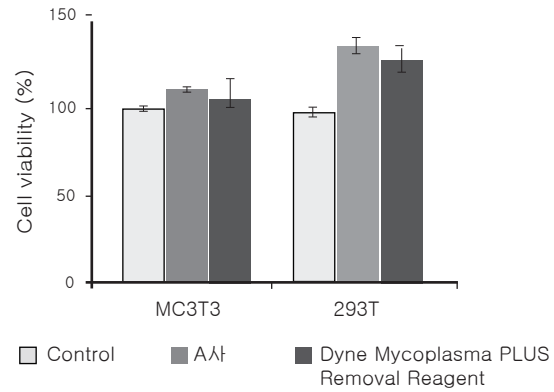
#### 1) 2주간 진행 하여도 Mycoplasma가 사라지지 않는 경우

- a. 이미 너무 많은 Mycoplasma가 생긴 상태: 2주간 Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent의 농도를 높여 더 배양 합니다.

#### 2) Mycoplasma는 사라졌지만 세포의 상태가 좋지 않은 경우

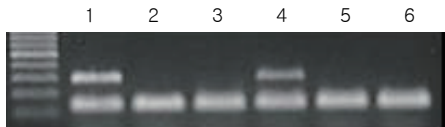
- a. 항생제에 의해 나타나는 일반적 과정입니다.
- b. FBS의 양을 10 % 증가하여 recovery 과정을 거칩니다. 이 때, Cell density를 평소보다 5~10 % 늘려 배양하며, clump/cluster가 생기지 않도록 주의합니다.

## 실험의 결과 예시



**Figure 1.**  $1 \times 10^4$  cell/well로 seeding하여 24 hr 배양한 다음 48 hr 동안 mycoplasma eliminates 처리 후, Dyne WST-8 Cell Viability Assay Kit(Cat No. GBW-1000)를 이용한 Cell viability test 수행 결과.

☞ 타사와 비교하여 Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent의 Cell toxicity는 보이지 않았습니다.



1. PC: Mycoplasma DNA
2. NC: D.W
3. Non-infected Cell
4. Mycoplasma Infected Cell
5. Dyne Mycoplasma PLUS Removal Reagent
6. A사

**Figure 2.** 배양한 세포를 harvest하여 genomic DNA extraction 후 확인

☞ Intracellular mycoplasma가 제거됨을 확인하였습니다.

## Related Products

- GBM-D25 Dyne Mycoplasma Detection kit, 25 tests
- GBM-R500 Dyne Mycoplasma Removal Reagent, 1ml 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