

## Mynox® & Mycoplasma Off®

Häufig gestellte Fragen (engl. Abk.: FAQs)

**Warum steht auf den Produkten 'storage at 4-8°C' (Lagerung bei 4-8°C) und nicht 'storage at room temperature' (Lagerung bei Raumtemperatur), obwohl das Versenden der Produkte bei Raumtemperatur erfolgt?**  
Es ist völlig unproblematisch Mynox® bei Raumtemperatur zu versenden. Mynox® wird durch autoklavieren bei 125°C für 20 min sterilisiert und ist bei Raumtemperatur und sogar höheren Temperaturen mindestens für 6 Monate haltbar. Oft wird Mynox® nach Ablauf der Haltbarkeitsfrist vom Kunden verwendet. Um das Produkt auch unter diesen Umständen in unverändert gutem Zustand zu erhalten, empfehlen wir eine Lagerung bei 4 - 8°C für einen langfristigeren Gebrauch (bei 4 - 8°C ist Mynox® mindestens 18 Monate haltbar). Auf dem beigefügten Qualitätszertifikat finden Sie die Information, dass das Versenden von Mynox® im Allgemeinen bei Raumtemperatur erfolgt, um zusätzliche Kosten für den Endverbraucher zu reduzieren.

## Warum sind Mykoplasmen direkt nach der Behandlung der Zellen mit Mynox® immer noch detektierbar?

Nach einer Mynox®-Behandlung sollten die Zellen erst nach frühestens 4 Passagen bei einer entsprechend hohen Zelldichte (90 %) auf übrig gebliebene Mykoplasmen getestet werden. Mynox® lysiert die Mykoplasmen durch einen Zerstörungsmechanismus, so dass Mykoplasmen-DNA nach einer Behandlung mit Mynox® im Zellkulturüberstand verbleibt. Extrazelluläre DNAsen werden mit andauernder Kultivierung und ansteigender Zelldichte die freie DNA hydrolysieren.

Verschiedene Faktoren können die Effizienz von Mynox® beeinträchtigen.

Ein wichtiger Faktor ist die FCS Konzentration. FCS enthält Cholesterin und andere Zielmoleküle für Mynox®. Daher sollte eine höhere FCS Konzentration im Medium unbedingt vermieden werden (ideal ist eine Endkonzentration des FCS von 5 %). Ein weiterer wichtiger Aspekt für eine effiziente Mykoplasmen Bekämpfung ist die Zellkonzentration. Falls eine vollständige Bekämpfung von Mykoplasmen mit der ersten Behandlung nicht erfolgte, empfehlen wir die Zellkonzentration zu verringern und/oder die Inkubationsdauer mit Mynox® zu verlängern.

Vor der Behandlung mit Mynox® überprüfen Sie bitte, ob sich Zellklumpen in ihrer Zellsuspension befinden. Eine verlängerte Trypsinierung unterstützt das Vermeiden von Zellklumpen deutlich.

Im Falle adherenter Zellen empfehlen wir Ihnen den Gebrauch von Petrischalen. Petrischalen sind insofern nützlich, als dass sie eine Re-Kontamination der Zellsuspension mit Mykoplasmen Aerosolen verhindern. Aerosole treten auf, wenn die Zellsuspension auf die Mynox®-Lösung pipettiert wird. Die Aerosole haften an der Oberfläche der Gefäßwand/decke und kommen auf diese Weise nicht mit der Mynox®-Lösung in Berührung. Diese kontaminierten Aerosole können schließlich die behandelte Zellkultur später erneut rekontaminieren.

Es ist sehr wichtig die Zellen direkt in die Mynox®-Lösung zu pipettieren und nicht umgekehrt. Ist der Mykoplasmen-Titer am Anfang der Behandlung besonders hoch, ist es gegebenenfalls notwendig die Zellen ein weiteres Mal mit Mynox® zu behandeln. In diesem Fall sollten Sie Ihren Zellen genug Zeit für ihre Erholung geben (Minimum: 2 Tage/Überprüfen am Mikroskop ist ratsam).

## Wann kann man sicher von einer dauerhaften Entfernung der Mykoplasmen ausgehen?

Sollten einige wenige Mykoplasmen die Behandlung mit Mynox® überlebt haben, werden diese nach 4 Passagen zu gut detektierbaren Titern herangewachsen sein. Mit dem sensitiven Venor®GeM PCR-System können diese heranwachsenden Mykoplasmen frühzeitig nachgewiesen werden.

## Müssen Standardantibiotika für die Behandlung entfernt werden?

Nein. Standardantibiotika wie Penicillin/Streptomycin können mitgeführt werden. Es wird jedoch davon abgeraten, grundsätzlich Antibiotika mitzuführen. Pen/Strep wirkt hauptsächlich gegen Keime des Mund- und Rachenraums und wurde zu Zeiten eingeführt, als mit dem Mund pipettiert wurde. Diese Zeiten sind seit Einführung von Sicherheitswerkbänken und Pipettierhilfen vorbei. Antibiotika können Einfluss auf den

Zellmetabolismus und damit auf die Ergebnisse von Experimenten haben (vgl. Kuhlmann, Cytotechnology 19:95-105,1996 „The prophylactic use of antibiotics in cell culture“). Bakterielle Kontaminationen können unterschwellig und unerkannt stören. Mit Onar®EUB steht von Minerva Biolabs ein sensitiver PCR-Nachweis für bakterielle Kontaminationen zur Verfügung (Art.-Nr. 12-1025).

#### Warum war Mynox® bei meiner Virus-Suspension nicht dauerhaft wirksam?

Zelltrümmer, wie Zellwand-Fragmente, binden Mynox® kompetitiv und verringern damit die Wirkkonzentration. Die Virussuspension muss vor der Behandlung von zellulären Trümmern befreit werden. Dies geschieht vorzugsweise durch Zentrifugation bei 1.000 rpm für 5 Minuten.

#### Wie kann ich die zytotoxische Wirkung von Mynox® kontrollieren?

In vielen Fällen, in denen sich Mynox® toxisch auf die Zellen ausgewirkt hat, war die Mischung - wie sie im Benutzerhandbuch beschrieben wird - nicht korrekt eingehalten worden. Auch die Serumkonzentration ist kritisch und muss für den Eliminierungsansatz 5 % (v/v) betragen.

Während der Behandlung sollten die Zellen halbstündlich im Mikroskop beobachtet werden. Wenn ein zytotoxischer Effekt auffällig ist, sollte die Behandlungszeit bei adhärennten Zellen auf 30 Minuten und bei Suspensionszellen auf 15 Minuten durch Mediumwechsel verkürzt werden.

#### Kann die Zellzahl für die Behandlung mit Mynox® erhöht werden?

Die Zellkonzentration kann auf das 10-fache erhöht werden, jedoch verringert sich damit die Eliminierungseffizienz von Mynox® moderat.

#### Kann Mynox® intrazelluläre Kontaminationen eliminieren?

Mynox® integriert nicht in zelluläre Membranen. Daher kann es keine intrazellulären Kontaminationen eliminieren. Mykoplasmen treten grundsätzlich extrazellulär auf. Mycoplasma penetrans und Mycoplasma galisepticum sind die einzigen Spezies, die bisher als intrazellulär beschrieben wurden, jedoch steht die wissenschaftliche Bestätigung für diese Behauptung noch aus. Beide Spezies wurden bisher nicht als Zellkulturkontaminanten beschrieben und brauchen unter normalen Laborbedingungen nicht berücksichtigt werden.

#### Wirkt Mynox® gegen Bakterien, Pilzen oder Chlamydien?

Nein, Mynox® eliminiert ausschließlich Mykoplasmen. Mynox® ist besonders zur Bekämpfung von Mykoplasmen-Kontaminationen in Chlamydien-Kulturen geeignet, da Behandlungen mit Standardantibiotika die Chlamydien in den Zellkulturen schädigen können.

#### Können Primärzellen mit Mynox® behandelt werden?

Ja, primäre Zellen können mit Mynox® behandelt werden. Hier empfehlen wir jedoch eine 10-fach höhere Zellkonzentration, jedoch verringert sich mit der Erhöhung der Zellkonzentration die Eliminierungseffizienz von Mynox® moderat.

#### Ist Trypsin eine mögliche Quelle für Kontaminationen in Zell-Kulturen?

Trypsin wird aus Bauchspeicheldrüsen von Schweinen gewonnen und daher für eine Quelle von Mycoplasma hyorhinis-Kontaminationen gehalten. Mycoplasma hyorhinis wird jedoch von Trypsin bei Raumtemperatur in nur wenigen Minuten lysiert und stellt damit keine Kontaminationsquelle dar.

#### Kann eine Mykoplasma-Kontamination mit dem Auge erkannt werden?

Nein. Mykoplasmen sind zu klein, um mit dem bloßen Auge erkannt zu werden. Sie können nur durch Elektronenmikroskopie beobachtet werden. Ein sensitiver Nachweis von Mykoplasmen-Kontaminationen kann

daher nur indirekt, z. B. mit dem Venor®GeM Mycoplasma Detection Kit erfolgen.

### Welches sind die empfohlenen Methoden für die Eliminierung von Mykoplasmen-Kontaminationen auf Oberflächen von Laborgeräten?

Das Mycoplasma-Off® Oberflächen Desinfektionsray ist ideal für das Reinigen und Desinfizieren von allen Laboroberflächen, eingeschlossenen Werkbänke, Inkubatoren, Arbeitsbereiche, Aufbewahrungsboxen und Flüssigstickstoffcontainern. Mycoplasma-Off® ist auch gegen eine breite Palette anderer Bakterien und Viren wirksam.

### Nach welchem Prinzip tötet Mycoplasma-Off® Mykoplasmen ab und wie lange können sie im Allgemeinen überleben?

Mycoplasma-Off® enthält Membran-aktive Komponenten, die in Kombination mit den in Mycoplasma-Off® enthaltenen Alkoholen wirken. Ausserdem beinhaltet Mycoplasma-Off® Aldehyde, hauptsächlich, um nicht-eingehüllte Viren und Sporen zu inaktivieren. Mycoplasma-Off® ist auch gegen Bakterien und andere Mikroorganismen wirksam.

Noch weiss man nicht genau, wie Mykoplasmen ausserhalb einer Kultur oder ihrer natürlichen Umgebung überleben können. Verlässliche Studien dazu gibt es nach unserem Kenntnisstand bis dato nicht. Es ist nur bekannt, dass Kreuz-Kontaminationen bei Zellkulturen sehr häufig auftreten. Kreuz-Kontaminationen können aber nur mit relativ stabilen Mykoplasmen erfolgen.

Minerva Biolabs GmbH, 03.2006