

Venor® GeM

Mycoplasma Detection Kit for conventional PCR with internal inhibition control

Inhaltsverzeichnis

1. Reagenzien und Materialien	2
1.1 Inhalt der Packung	2
1.2 Lagerung und Stabilität der Reagenzien	2
1.3 Benötigte Geräte und Materialien	2
2. Anwendungsgebiete und Testprinzip	3
3. Durchführung	3
3.1 Gewinnung des Probenmaterials	3
3.2 Rehydratisierung der Reagenzien	4
3.3 Programmierung des Thermocyclers	4
3.4 Ansatz des PCR-Reaktionsmixes (Mastermix)	4
3.5 Agarosegel-Lauf	5
3.6 Gelauswertung	5
Anlage	14

Contents

1. Reagents and Materials	8
1.1 Kit Components	8
1.2 Stability and Storage	8
1.3 Supplemental Requirements	8
2. Application and Test Principle	9
3. Test Protocol	9
3.1 Preparation of Sample Material	9
3.2 Rehydration of the Reagents	10
3.3 Thermal Profile	10
3.4 The PCR Mastermix	10
3.5 Agarose Gel Run	11
3.6 Gel Evaluation	11
Appendix	14

1. Reagenzien und Materialien

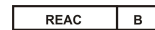
1.1 Inhalt der Packung

Arbeitsanleitung

Primer/Nucleotide Mix

Primer und Desoxynukleotidtriphosphate dATP, dCTP, dGTP und dUTP; portioniert für 25 Tests (im Freekit für 5 Tests), lyophilisiert

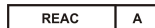
roter Verschluss



PCR 10x Reaction Buffer

Reaktionspuffer, 500 µl

blauer Verschluss



Positive Control DNA

DNA-Fragmente des *Mycoplasma orale*-Genoms, mittels PCR hergestellt, nicht infektiös, lyophilisiert

grüner Verschluss



Internal Control DNA

Interne Kontrolle, Plasmid-DNA, lyophilisiert

gelber Verschluss



PCR grade Water

deionisiertes, DNA-freies Wasser für die Komponentenaufnahme und die PCR-Reaktion, 2 ml

weißer Verschluss



1.2 Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Alle Reagenzien werden bei Raumtemperatur versendet und müssen bei +2°C bis +8°C gelagert werden. Häufiges Auftauen und Einfrieren der Reagenzien sollte vermieden werden. Werden wenige Proben regelmäßig getestet, sollten die Kontrollen, *Primer/Probe/Nucleotide Mix* und die *Internal Control* nach dem Auflösen aliquotiert und eingefroren werden. Bei vorschriftsmäßiger Lagerung ist der Kit bis zu dem im *Guarantee Certificate* (online: <http://www.minerva-biolabs.com/>) angegebenen Datum haltbar.

1.3 Benötigte Geräte und Materialien

PCR-Thermocycler und Mineralöl bei Verwendung eines Thermocyclers ohne Heizdeckel

PCR-Reaktionsgefäße

DNA-Elektrophoreseapparatur und Materialien zur Agarosegel-Elektrophorese

Mikrozentrifuge, Mikroliterpipetten und Filterspitzen

DNA-Polymerase



Dieser Kit erzielt exzellente Ergebnisse mit unserer MB Taq DNA-Polymerase (Cat # 53-0050; 53-0100; 53-0200; 53-0250).

Hinweis: Bei der Verwendung anderer Polymerasen mit unserem Kit können wir weder hohe Sensitivität noch Kompatibilität garantieren. Sollten Sie unsere MB Taq DNA-Polymerase im Vergleich mit Ihrer eigenen Polymerase testen wollen, fordern Sie bitte ein kostenfreies MB Taq Testmuster (10 Units) an. Es kann bei der Verwendung anderer Polymerasen notwendig sein, den mit der Polymerase mitgelieferten Reaktionspuffer zu verwenden.

2. Anwendungsgebiete und Testprinzip

Der Venor®GeM-Mykoplasmen-Detektionskit ist ein Nukleinsäure-Amplifikationstest auf Basis der Polymerase-Kettenreaktion. Die PCR-Methode erlaubt eine schnelle und sehr sensitive Detektion von Mykoplasmenkontaminationen in biologischen Proben. Mit Venor®GeM sind 1 bis 5 fg Mykoplasmen-DNA, entsprechend 2-5 Mykoplasmen pro Probenvolumen, detektierbar. Die mitgelieferten Primer erlauben der DNA-Polymerase die Vervielfältigung eines Abschnitts der 16S rRNA-Region des Mykoplasmen-genoms. Das amplifizierte PCR-Produkt hat eine Größe von ca. 270 bp und kann direkt im Agarosegel sichtbar gemacht werden. Das gewählte Template ist innerhalb der Spezies *Mycoplasma* hochkonserviert, zeigt jedoch auch deutliche Sequenzhomologien zum Genom von *Acholeplasma laidlawii* und verschiedenen Ureaplasmen. Mit Venor®GeM können daher neben den typischerweise als Kontaminanten in Zellkulturen auftretenden Mykoplasmen-spezies *M. orale*, *M. hyorhinis*, *M. arginini*, *M. fermentans*, *M. salivarium* und *M. hominis* auch *M. pneumoniae*, *Acholeplasma laidlawii*, *M. synoviae* und verschiedene Ureaplasma-Spezies detektiert werden.

Das Testsystem beinhaltet außerdem eine Interne Kontrolle, welche im PCR-Ansatz mitgeführt werden kann. Die Interne Kontrolle liefert in einer erfolgreich durchgeführten PCR ein 191 bp großes Produkt, welches im Agarosegel kurz unterhalb der Bande einer Mykoplasmen-positiven Probe erscheint.



Venor®GeM ist ausschließlich für Forschungszwecke bestimmt und darf nicht für die klinische Diagnostik eingesetzt werden.

3. Durchführung

3.1 Gewinnung des Probenmaterials

Zellkulturen sollten bei 90 bis 100 % Konfluenz getestet werden. Bei überalterten Kulturen kann es zur Anreicherung von Inhibitoren der PCR im Kulturmedium kommen, ggf. ist eine DNA-Extraktion durchzuführen. Im Zellkulturmedium enthaltenes Penicillin oder Streptomycin hat keinen Einfluss auf das Wachstum von Mykoplasmen oder die Sensitivität des Tests. Die hohe Empfindlichkeit der PCR-Methode erhöht die Gefahr falsch-positiver Ergebnisse, z.B. durch Kreuzkontaminationen oder unsauberes Arbeiten. Alle Arbeiten sollten unter Beachtung der geltenden Laborregeln durchgeführt werden.

Zellkulturüberstände sind für die Testung besonders gut geeignet. Zellen sollten nicht in die Probe eingebracht werden, da sie die PCR-Reaktion inhibieren können. Eine kontaminierte Zellkultur enthält ca. 10^6 Mykoplasmen/ml. Auch wenn die jeweilige Mykoplasmenart an der Zelloberfläche anhaften kann, steht ausreichend Mykoplasmen-DNA im Zellkulturüberstand für einen positiven Nachweis zur Verfügung. Zellen können aber wie auch Gewebeextrakte, Cryokulturen, fötales Kälberserum, Impfstoffe oder Paraffin-Schnitte nach einer geeigneten DNA-Extraktion getestet werden.

Die PCR-Probe wird durch kurzzeitiges Erhitzen für den Test vorbereitet. Im Probenmaterial enthaltene Mykoplasmen werden lysiert und DNAsen inaktiviert. Durch Zentrifugation werden störende Zelltrümmer abgetrennt.

1. 100 µl Probenmaterial, z.B. Zellkulturüberstand, in steriles Reaktionsgefäß geben, dicht verschließen;
2. 5 min kochen, Vorsicht: Deckel kann sich öffnen und Aerosole können entstehen;
3. für 5 Sekunden bei 13000 Umdrehungen/min zentrifugieren;
4. 2 µl des Überstandes für den PCR-Test einsetzen, Probe ist für ca. 2 Wochen bei +2°C bis +8°C stabil.

3.2 Rehydratisierung der Reagenzien

1. Lyophilisate für 5 Sekunden bei 13000 Umdrehungen/min zentrifugieren
2. Zugabe von deionisiertem, DNA-freiem Wasser (Röhrchen mit weißem Deckel)

<i>Primer/Nucleotide Mix</i> (für max. 25 Reaktionen):	65 μ l
Probekit: <i>Primer/Nucleotide Mix</i> (für max. 5 Reaktionen):	15 μ l
<i>Positive Control DNA</i> :	300 μ l
<i>Internal Control DNA</i> :	300 μ l
3. 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
4. kurz vortexen, erneut für 5 Sekunden bei 13000 Umdrehungen/min zentrifugieren



Nach erfolgter Rehydratisierung müssen die Reagenzien auf Eis gehalten und bei mindestens -18°C gelagert werden.

3.3 Programmierung des Thermocyclers

Die Durchführung der Programmierung Ihres PCR-Cyclers entnehmen Sie bitte dem Handbuch zum Gerät.

Programm:

- | | |
|-----------|-----------------|
| 1 Zyklus | 94°C für 2 min |
| 39 Zyklen | 94°C für 30 sec |
| | 55°C für 30 sec |
| | 72°C für 30 sec |

auf 4°C bis 8°C abkühlen



Die Dauer der Vorinkubation bei 94°C ist von der verwendeten Polymerase abhängig. Bei anderen Hot-Start-Enzymen muss die Vorinkubation zur Aktivierung eventuell entsprechend verlängert werden. Bitte entnehmen Sie die Dauer dem Beipackzettel Ihrer Polymerase.

3.4 Ansatz des PCR-Reaktionsmixes (Mastermix)

Das Gesamtvolumen des Ansatzes für eine Reaktion beträgt 25 μ l. Für jede Testreihe muss eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle mitgeführt werden. Der Mastermix wird in einem 1,5 ml-Reaktionsgefäß angesetzt und vorsichtig gemischt.

Pipettierschema:

	für 1 Reaktion	für 5 Reaktionen*	für 25 Reaktionen
PCR grade Water (weißer Deckel)	15,3 µl	76,5 µl	382,5 µl
10x Reaction Buffer (blauer Deckel)	2,5 µl	12,5 µl	62,5 µl
Primer/Nucleotide Mix (roter Deckel)	2,5 µl	12,5 µl	62,5 µl
Internal Control DNA (gelber Deckel)	2,5 µl	12,5 µl	62,5 µl
Polymerase (5 U/µl)	0,2 µl	1,0 µl	5,0 µl

*entspricht dem Inhalt eines *Primer/Nucleotide Mix*-Röhrchens des Probekits

Für andere Enzymkonzentrationen muss die Verdünnung entsprechend angepasst werden.

Der Mastermix wird á 23 µl auf die PCR-Reaktionsgefäße verteilt und mit 2 µl deionisiertem Wasser (Röhrchen mit weißem Deckel) oder Elutionspuffer der DNA-Extraktion als Negativkontrolle, bzw. 2 µl Probe oder 2 µl Positivkontrolle (Röhrchen mit grünem Deckel) versetzt. Diese Pipettierreihenfolge sollte eingehalten und die Reaktionsgefäße nach jedem Pipettieren sofort geschlossen werden.

Der Ansatz wird vorsichtig gemischt, kurz zentrifugiert, die Reaktionsgefäße in den Block des PCR-Cyclers gestellt und das Cyclerprogramm gestartet.

3.5 Agarosegel-Lauf

- 1,5 %iges Standard-Agarosegel, ca. 5 mm dick, mit 5 mm-Kamm
- 5 µl jedes PCR-Reaktionsansatzes, gemischt mit Brom-Phenolblau-Ladepuffer, pro Bahn auftragen (es sollte nur Brom-Phenolblau in geringer Konzentration als Laufmarker verwendet werden)
- Elektrophorese nach 2 cm Wegstrecke stoppen (je nach Elektrophoresekammer z.B. nach 20 Minuten bei 100 V)

3.6 Gelauswertung

Bei Verwendung der Internen Kontrolle wird eine fehlerfreie PCR durch eine Bande bei 191 bp angezeigt. Bei Zunahme der Konzentration an Mykoplasmen-DNA ($> 5 \times 10^6$ Partikel/ml) nimmt die Intensität der Internen Kontrolle durch die übermäßige Bildung des Mykoplasmen-Amplikons ab.

Relevanten Amplikongrößen:

Interne Kontrolle	191 bp
<i>Mycoplasma spp.</i>	265-278 bp

(siehe auch Liste im Anhang)

Ergebnisse einer erfolgreichen PCR

PCR-Ansatz	Bandenmuster
Negativkontrolle	Bande bei 191 bp
Positivkontrolle	Bande bei 267 bp, aber auch zusätzliche Bande bei 191 bp möglich

Findet bei den Kontrollansätzen keine Amplifikation statt, kann dies folgende Ursachen haben:

- Aktivität der verwendeten Polymerase nicht ausreichend
- Kontroll-DNA enthaltende Röhrchen wurden vor Rehydratisierung nicht herunterzentrifugiert
- Programmierfehler
- Pipettierfehler

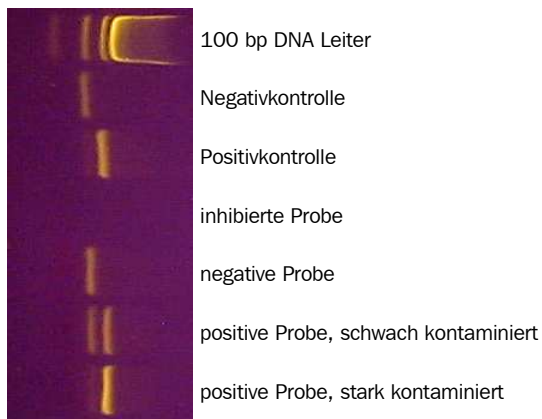
Zur Fehleranalyse sollten zuerst das Thermocycler-Programm sowie das Pipettierschema überprüft werden. Anschließend empfiehlt sich die Durchführung von Probeläufen mit einer Positiv- und einer Negativkontrolle. Bei Verwendung anderer DNA-Polymerasen als der empfohlenen sind die unter Punkt 1.3 aufgeführten Hinweise zu beachten. Die Polymerase-Konzentration kann dabei auf bis zu 2,5 U/Reaktion erhöht werden. Bitte beachten Sie, dass sich das gesamte Pipettierschema verändert.

Interpretation möglicher Bandenmuster der Proben:

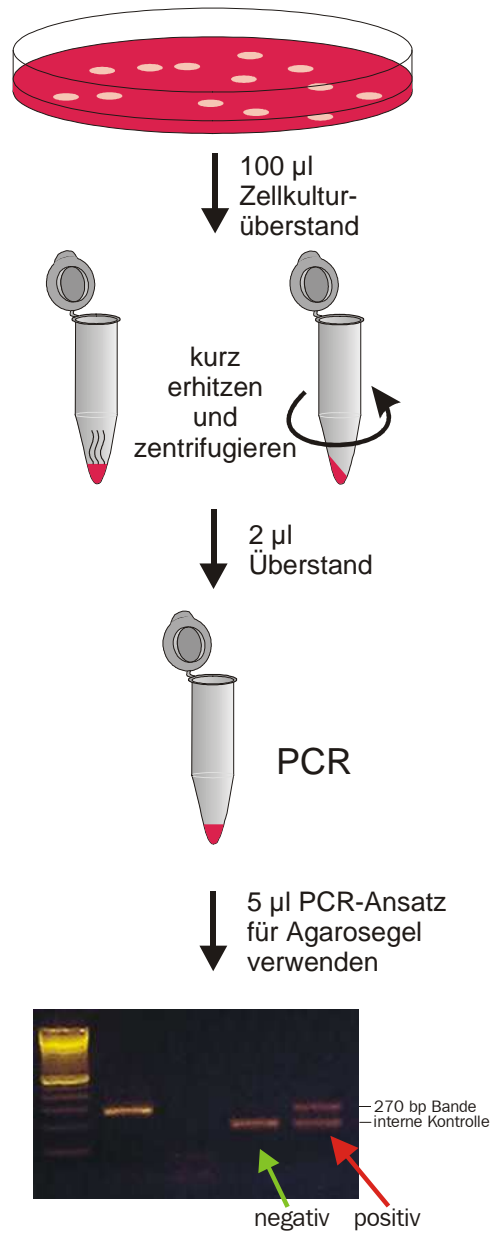
Bandenmuster	Interpretation
Bande bei 191 bp	negative Probe
Bande bei ca. 270 bp, mit zusätzlicher Bande bei 191 bp	positive Probe mit schwacher Kontamination
starke Bande bei ca. 270 bp	positive Probe mit starker Kontamination
keine Bande	- Inhibition der PCR durch Bestandteile in der Probe - Aktivität der Polymerase nicht ausreichend

Vereinzelt kann es zur Bildung unspezifischer PCR-Produkte kommen, die als schwache, meist diffuse Banden unterschiedlicher Größen im Gel sichtbar werden. Diese Banden, hervorgerufen durch unspezifisches Annealing, bedeuten keine Kontamination, solange sie nicht die oben angegebenen Größen aufweisen. Primerdimere können eine diffuse Bande bei 80-90 bp bilden.

Bei ersichtlicher Inhibition der PCR durch die Probe muss eine DNA-Extraktion mit einem handelsüblichen Extraktionskit durchgeführt und die Probe erneut getestet werden. Im Anhang finden Sie eine Liste von DNA-Extraktionskits, die mit diesem PCR-Kit validiert wurden.



Übersicht des Testablaufs



1. Reagents and Materials

1.1 Kit Components

Instruction Manual

Primer/Nucleotide Mix

primer set and deoxynucleotide triphosphates dATP, dCTP, dGTP and dUTP; aliquoted for 25 reactions (freekit for 5 reactions), lyophilized

red cap

REAC	B
------	---

PCR 10x Reaction Buffer

500 µl

blue cap

REAC	A
------	---

Positive Control DNA

DNA-fragments of *Mycoplasma orale* genome, prepared by PCR, non-infectious, lyophilized

green cap

CONTROL	+
---------	---

Internal Control DNA

Plasmid-DNA, non-infectious, lyophilized

yellow cap

CONTROL	i
---------	---

PCR grade Water

deionized, DNA-free water for rehydration of the lyophilized kit components and for the PCR reaction

white cap

REAC	H
------	---

1.2 Stability and Storage

Kit components are stable during shipping. Upon receipt, store at +2 to +8°C. After rehydration of the controls, *Primer/Probe/Nucleotide Mix* and *Internal Control*, store below -18°C and avoid repeated freezing and thawing. For repeated testing of low sample numbers, controls, *Primer/Probe/Nucleotide Mix* and *Internal Control Probe* should be aliquoted after rehydration. By following these recommendations, the kit is stable until the expiration date stated on the Guarantee Certificate (online: <http://www.minerva-biolabs.com/>).

1.3 Supplemental Requirements

PCR thermal cycler

mineral oil, if required for the particular thermal cycler used

PCR reaction tubes

agarose gel electrophoresis apparatus

micro centrifuge, micropipettes and filtered tips

polymerase



The test provides excellent results with MB Taq DNA-Polymerase (Cat # 53-0050; 53-0100; 53-0200; 53-0250).

Note: We can neither guarantee a high level of sensitivity nor compatibility with other polymerases. If you intend to test our MB Taq DNA-Polymerase in parallel with your in-house polymerase, please feel free to contact us and get a gratis MB Taq sample (10 units). However, if you want to use your own polymerase, it may be necessary to use the specific buffer provided with this polymerase.

2. Application and Test Principle

Venor[®]GeM utilizes the polymerase chain reaction (PCR), which was established as the method of choice for highest sensitivity in the detection of *Mycoplasma* and *Acholeplasma* contamination in cell cultures and other cell culture derived biologicals. Detection requires as little as 1 to 5 fg of mycoplasma DNA corresponding to 2-5 mycoplasma per sample volume. The primer set is specific to the highly conserved rRNA operon, or more specifically, the 16S rRNA coding region in the mycoplasma genome. This allows for detection of *M. orale*, *M. hyorhinis*, *M. arginini*, *M. fermentans*, *M. salivarium*, *M. hominis*, usually encountered as contaminants in cell cultures, but also *M. pneumoniae*, *Acholeplasma laidlawii*, *M. synoviae* and *Ureaplasma* species. Eukaryotic and bacterial DNA is not amplified by Venor[®]GeM. Only one protocol is needed for the detection of all mycoplasma species. The detection procedure can be performed within 3 hours.

Venor[®]GeM also provides internal control DNA, which can be added to the reaction. When running the PCR with the internal control DNA, a successfully performed reaction is indicated by a 191 bp band on the agarose gel.



Venor[®]GeM is intended for research use only. Not for clinical diagnostics or testing of human samples.

3. Test Protocol

3.1 Preparation of Sample Material

Samples should be derived from cultures which are at 90-100 % confluence. PCR inhibiting substances may accumulate in the medium of older cultures. For these sample materials a DNA extraction is strictly recommended prior testing. Penicillin or streptomycin in the culture media do not inhibit mycoplasma or affect test sensitivity. Only cell culture supernatant should be applied to test for mycoplasma. Cell pellets should not be tested, since debris will interfere with the PCR reaction. With average titers at 10^6 and a maximum titer at 10^8 you will find sufficient mycoplasma in the supernatant to guarantee a sensitive PCR. However, cell pellets as well as Fetal Calf Serum, vaccines, and paraffin-embedded samples can be tested following DNA extraction.

Templates for PCR analysis are prepared by boiling the supernatant of cell cultures or other biologicals for 5 minutes as follows:

1. Transfer 100 μ l of supernatant from the test culture to a sterile micro centrifuge tube. The lid should be tightly sealed to prevent opening during heating;
2. boil or incubate the sample supernatant at 95°C for 5 minutes;
3. briefly centrifuge (5 seconds) the sample supernatant to pellet cellular debris before adding to the PCR mixture.

3.2 Rehydration of the Reagents

1. centrifuge tubes with lyophilized components (5 sec at maximum speed)
2. add appropriate amount of deionized, DNA-free water (white capped tube):

<i>Primer/Nucleotide Mix</i> (per portion of 25 reactions)	65 μ l
Trial Kit: Primer/Nucleotide Mix (per portion of 5 reactions)	15 μ l
<i>Positive Control DNA</i>	300 μ l
<i>Internal Control DNA</i>	300 μ l

3. incubate for 5 minutes at room temperature
4. vortex and centrifuge again



Keep reagents on ice and store below -18°C after rehydration.

3.3 Thermal Profile

The programming process of your cycler is explained in the manual of the instrument.

Program

1 cycle	94°C for 2 min
39 cycles	94°C for 30 sec
	55°C for 30 sec
	72°C for 30 sec

cool down to 4°C to 8°C



The incubation time depends on the polymerase used. Some hot start enzymes need to be activated at 94°C for more than 2 minutes. Please see polymerase data sheet for duration.

3.4 The PCR Mastermix

Total volume per reaction is 25 μ l. When setting up reactions, calculations should also include positive and negative controls. Pipet mastermix on ice into a 1.5 ml reaction tube and mix gently.

Pipetting schemes:

	for 1 reaction	for 5 reactions*	for 25 reactions
<i>PCR grade Water</i> (white cap)	15.3 μ l	76,5 μ l	382.5 μ l
<i>10x Reaction Buffer</i> (blue cap)	2.5 μ l	12,5 μ l	62.5 μ l
<i>Primer/Nucleotide Mix</i> (red cap)	2.5 μ l	12,5 μ l	62.5 μ l
<i>Internal Control</i> (yellow cap)	2.5 μ l	12,5 μ l	62.5 μ l
<i>Polymerase</i> (5 U/ μ l)	0.2 μ l	1,0 μ l	5.0 μ l

* content of one red-capped vial totals 5 reactions

For other polymerase concentrations the amount of water needs to be adjusted.

For controls, add 2 μ l of DNA template supplied for positive control, and 2 μ l of water (white capped tube) for negative control. Add 2 μ l of sample (as described above) to PCR reaction tube per sample being tested. After pipetting the negative control, the tube must be sealed before proceeding with the samples. Also pipetting of the samples and sealing the tubes must be completed before proceeding with the positive control (green capped tube) in order to avoid cross contamination.

3.5 Agarose Gel Run

- 1.5% standard agarose gel, approx. 5 mm thick, with 5 mm-comb
- load 5 μ l of each PCR reaction, mixed with bromophenol blue loading buffer per lane (only bromophenol blue in a low concentration should be used as a run marker)
- stop electrophoresis after 2 cm run distance (depending on the electrophoresis chamber used e.g. run for 20 minutes at 100 V)

3.6 Gel Evaluation

If internal control DNA was used, a distinct 191 bp band should appear in every lane indicating a successfully performed PCR. This band may fade out with increased amounts of amplicons formed, caused by mycoplasma DNA loads of $> 5 \times 10^6$ copies/ml. The initial concentration of positive control DNA exceeds 5×10^6 copies/ml in order to account for DNA loss resulting from repeated freezing and thawing.

Relevant amplicon sizes:

Internal control	191 bp
<i>Mycoplasma spp.</i> (see table in the appendix)	265-278 bp

Results of a successfully performed PCR:

PCR sample	Band pattern
negative control	band at 191 bp
positive control	band at 267 bp , possibly an additional band at 191 bp

No amplification of control DNA may be due to the following reasons:

- activity of polymerase is insufficient
- control DNA tubes have not been spun down before rehydration
- programming mistake
- pipetting mistake

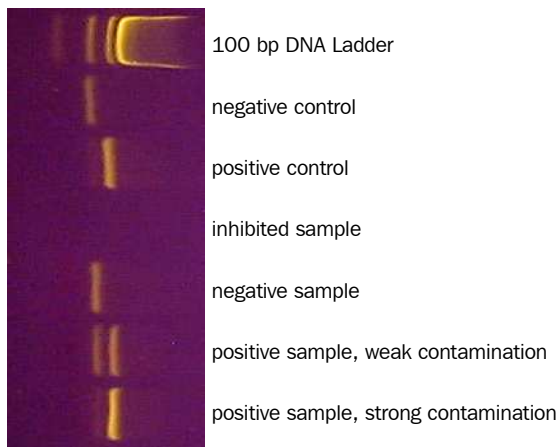
Before rerun of a negative and a positive control please check thermocycler protocol and pipetting scheme. When using polymerases other than the MB TAQ DNA Polymerase, please note the comments made under chapter 1.3. The enzyme concentration can then be raised up to 2.5 U/reaction. Please note the complete change of the pipetting scheme.

Interpretation of possible band patterns:

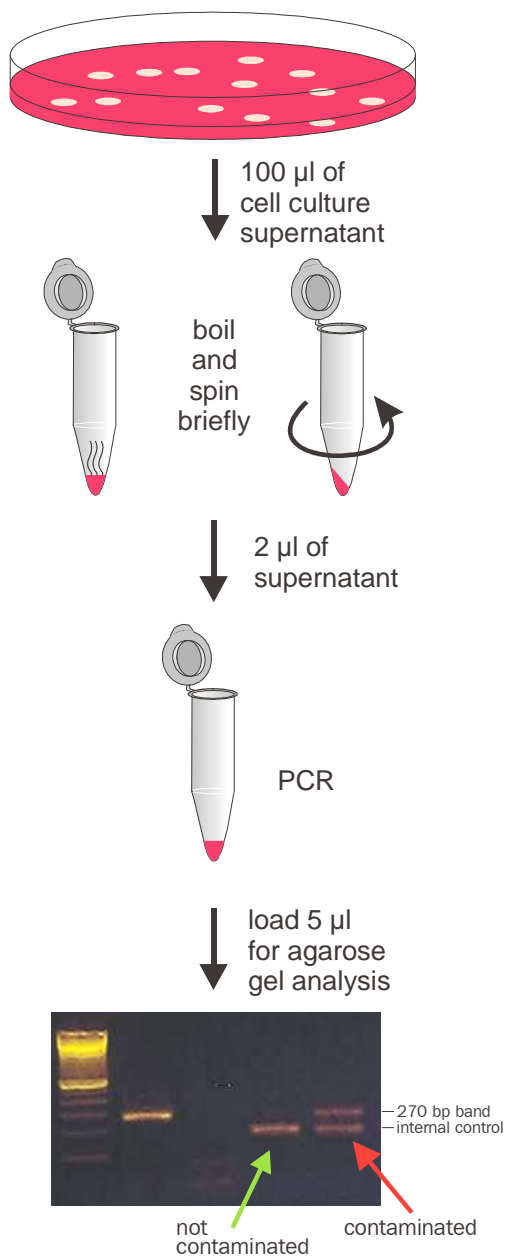
Band pattern	Interpretation
band at 191 bp	negative sample
band at 270 bp and at 191 bp	mycoplasma-positive sample with weak contamination
strong band at 270 bp	mycoplasma-positive sample, highly contaminated
no band	PCR inhibition Activity of polymerase is insufficient

With Venor[®]GeM designed for high sensitivity and therefore prone to nonspecific annealing, bands of various length that are less intensive can be produced, but do not indicate positive results. Possible primer self-annealing produces another band of 80-90 bp in length, but also does not affect the precision or results of the test.

If the PCR of a sample is inhibited, PCR inhibitors can easily be removed from the sample by performing a DNA extraction with a commercially available kit. A list of recommended DNA extraction kits is provided in the appendix.



Scheme of the protocol



Appendix

Detection Range and Sizes of Amplicons

No.	species	amplicon size (bp)
1	<i>Mycoplasma orale</i> ^{1,2}	266
2	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ²	273
3	<i>Mycoplasma penetrans</i>	274
4	<i>Mycoplasma pirum</i>	274
5	<i>Acholeplasma laidlawii</i> ²	273
6	<i>Mycoplasma fermentans</i>	267
7	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	273
8	<i>Mycoplasma hyorhinis</i> ²	268
9	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	268
10	<i>Mycoplasma falconis</i>	268
11	<i>Mycoplasma arthritidis</i>	267
12	<i>Mycoplasma arginini</i>	267
13	<i>Mycoplasma spermatophilum</i>	267
14	<i>Mycoplasma opalescens</i>	266
15	<i>Mycoplasma primatum</i>	267
16	<i>Mycoplasma maculosum</i>	267
17	<i>Mycoplasma bovis</i>	267
18	<i>Mycoplasma cloacale</i>	266
19	<i>Mycoplasma hyosynoviae</i>	265
20	<i>Mycoplasma synoviae</i> ²	266
21	<i>Mycoplasma salivarium</i>	266
22	<i>Mycoplasma faucium</i>	265
23	<i>Mycoplasma hominis</i>	266
24	<i>Mycoplasma genitalium</i>	273
25	<i>Mycoplasma bovis genitalium</i>	267
26	<i>Mycoplasma sp. ovine/caprine</i>	267
27	<i>Mycoplasma agalactica</i>	267
28	<i>Mycoplasma timone</i>	266

¹ provided as positive control DNA

² Test strain according to European Pharmacopoeia, Suppl. 2000, 2.6.7. Mycoplasmas

Limited Product Warranty

This warranty limits our liability for replacement of this product. No warranties of any kind, express or implied, including, without limitation, implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, are provided. Minerva Biolabs shall have no liability for any direct, indirect, consequential, or incidental damages arising out of the use, the results of use, or the inability to use this product.

[§]Notice to Purchaser

This product is optimized for use in the Polymerase Chain Reaction („PCR“) covered by patents owned by Hoffmann-La Roche, Inc., and F. Hoffmann-La Roche Ltd. („Roche“). No license under these patents to use the PCR process is conveyed expressly or by implication to the purchaser of this product. Minerva Biolabs does not encourage or support the unauthorized or unlicensed use of the PCR process. Use of this product is restricted to persons that either have a license to perform PCR or are not required to obtain a license.

Trademarks

Venor, Onar and Mycoplasma Off are registered trademarks of Minerva Biolabs GmbH, Germany.

Related Products**Polymerases**

53-0050	MB Taq DNA Polymerase	50	units
53-0100	MB Taq DNA Polymerase	100	units
53-0200	MB Taq DNA Polymerase	200	units
53-0250	MB Taq DNA Polymerase	250	units
54-0100	EUB Polymerase, DNA-free	100	units
54-0500	EUB Polymerase, DNA-free	500	units

Diagnostic Kits for conventional PCR

11-1025	Venor [®] GeM Mycoplasma Detection Kit	25	tests
11-1050	Venor [®] GeM Mycoplasma Detection Kit	50	tests
11-1100	Venor [®] GeM Mycoplasma Detection Kit	100	tests
11-1250	Venor [®] GeM Mycoplasma Detection Kit	250	tests
12-1025	Onar [®] EUB Eubacteria Detection Kit	25	tests
12-1050	Onar [®] EUB Eubacteria Detection Kit	50	tests
12-1100	Onar [®] EUB Eubacteria Detection Kit	100	tests
12-1250	Onar [®] EUB Eubacteria Detection Kit	250	tests

Diagnostic Kits for real-time PCR

11-4025	Venor [®] GeM-qEP Mycoplasma ssp. Detection Kit	25	tests
11-4100	Venor [®] GeM-qEP Mycoplasma ssp. Detection Kit	100	tests
11-4250	Venor [®] GeM-qEP Mycoplasma ssp. Detection Kit	250	tests
11-6025	Venor [®] GeM-qDual Mycoplasma Detection Kit with external Inhibition control	25	tests
11-6100	Venor [®] GeM-qDual Mycoplasma Detection Kit with external Inhibition control	100	tests

Mycoplasma Elimination

10-0200	Mynox [®] Mycoplasma Elimination Reagent	2	treatments
10-0500	Mynox [®] Mycoplasma Elimination Reagent	5	treatments
10-1000	Mynox [®] Mycoplasma Elimination Reagent	10	treatments

Genomic DNA Extracts 100 µl each

51-1723	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , NC 001723	+/- 10	ng / 100 µl
51-0566	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , DSMZ 20566	+/- 10	ng / 100 µl
51-0792	<i>Clostridium acetobutylicum</i> , DSMZ 792	+/- 10	ng / 100 µl
51-5571	<i>Bordetella pertussis</i> , DSMZ 5571	+/- 10	ng / 100 µl
51-3415	<i>Bordetella parapertussis</i> , DSMZ 13415	+/- 10	ng / 100 µl
51-0177	<i>Ureaplasma urealyticum</i> , NC 10177	+/- 10	ng / 100 µl
51-0111	<i>M. hominis</i> , NC 010111	+/- 10	ng / 100 µl
51-0112	<i>M. orale</i> , NC 010112	+/- 10	ng / 100 µl
51-0113	<i>M. salivarium</i> , NC 010113	+/- 10	ng / 100 µl
51-0115	<i>M. gallisepticum</i> , NC 010115	+/- 10	ng / 100 µl
51-0116	<i>Acholeplasma laidlawii</i> , NC 010116	+/- 10	ng / 100 µl
51-0117	<i>M. fermentans</i> PG19, NC 010117	+/- 10	ng / 100 µl
51-0119	<i>M. pneumoniae</i> , NC 010119	+/- 10	ng / 100 µl
51-0129	<i>M. arginini</i> , NC 010129	+/- 10	ng / 100 µl
51-0130	<i>M. hyorhinis</i> , NC 010130	+/- 10	ng / 100 µl
51-0162	<i>M. arthritidis</i> , NC 010162	+/- 10	ng / 100 µl
51-0195	<i>M. genitalium</i> , NC 010195	+/- 10	ng / 100 µl
51-1746	<i>M. penetrans</i> , NC 11746	+/- 10	ng / 100 µl

Quantification Standard 100 µl each

52-0119	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> DNA Standard	1x10 ⁶	genomes/µl
52-0112	<i>Mycoplasma orale</i> DNA Standard	1x10 ⁶	genomes/µl
52-0116	<i>Acholeplasma laidlawii</i> DNA Standard	1x10 ⁶	genomes/µl

Mycoplasma Off[®]

15-1000	Surface Disinfectant Spray, spray bottle	1000	ml
15-5000	Surface Disinfectant Spray, refill bottles	5 x 1000	ml

DNA Remover[™]

15-2025	DNA Decontamination Reagent, spray bottle	250	ml
15-2200	DNA Decontamination Reagent, refill bottles	4 x 500	ml

Minerva Biolabs' International Distributors

Argentina

Genbiotech SRL
Tel: +54-11-4552 6873
Fax: +54-11-4552 6873
Email: info@genbiotech.com.ar
Web: www.genbiotech.com.ar

Australia

Biocene Pty. Ltd.
Tel: +61 2 9882 3800
Fax: +61 2 9882 3233
E-mail: jenny@biocene.com

Austria

BioProducts
Tel: +43 2268 61 65 11
Fax: +43 2268 61 65 44
E-mail: info@bioproducts.at
Web: www.bioproducts.at

Belgium, Luxemburg

Lucron Bioproducts bvba
Tel: +32 92 82 05 31
Fax: +32 92 82 05 32
E-mail: info@lucronbioproducts.com
Web: www.lucronbioproducts.com

Canada

Medicorp Inc.
Tel: +1 514 7331 900
Fax: +1 514 7331 212
Email: mktg@medicorp.com
Web: www.medicorp.com

China

Vian-Saga Biological Technology Ltd.
Tel: +86 10 8411 8493
Fax: +86 10 8411 8494
Email: Michael@vian-saga.com

Croatia

Gorea Plus d.o.o.
Tel: +385-1-3369 610
Fax: +385-1-3369 611
Email: management@gorea-plus
Web: www.gorea-plus.hr

Czech Republic

BIO-Consult Laboratoriers spol. sro.
Tel: +42 2 4447 1239
Fax: +42 2 4447 1239
Email: info@bioconsult.cz
Web: www.bioconsult.cz

Finland

Immuno Diagnostic Oy
Tel: +358 3 615 370
Fax: +358 3 682 2039
Email: info@immunodiagnostic.fi
Web: www.immunodiagnostic.fi

France

Biovalley
Tel: +33 1 6007 2020
Fax: +33 1 6007 5051
Email: biovalley@biovalley.fr
Web: www.biovalley.fr

Great Britain

Cambio Ltd.
Tel: +44 1954 210 200
Fax: +44 1954 210 300
E-mail: support@cambio.co.uk
Web: www.cambio.co.uk

Greece

Bioanalytica S.A.
Tel: +30 210 6400 318
Fax: +30 210 5220 926
Email: bioanalyt@bioanalytica.gr
Web: www.bioanalytica.gr

Varelas S.A.

Tel: +30 210 5281 901
Fax: +30 210 5220 926
Email: varelas@otenet.gr

Hungary

Ferol Ltd.
Tel: +36-1-220 8848
Fax: +36-1-221 0229
Email: ferol@biolab.hu
Web: www.biolab.hu

India

Zelle Biotechnology Pvt. Ltd.
Tel: +91-22-2685 8741 / 42
Fax: +91-22-2685 8744
Email: info@zellebiotech.com
Web: www.zellebiotech.com

Ireland

Medical Supply Company
Tel: +353 1 8224 222
Fax: +323 1 8224 100
Email: dmccglade@medical-supply.ie
Web: www.medical-supply.ie

United Ltd.

Tel: +353-1-4048 345
Fax: +353-1-4048 333
Email: info@unitech.ie
Web: www.united-drug.ie

Israel

Origolab Ltd.
Tel: +972-2-566 9285
Fax: +972-2-561 2120
Email: origolab@netmedia.net.il

Italy

Biospa
Tel: +39-02-891 391
Fax: +39-02- 891 20996
Email: biospa@spaspa.it
Web: www.spaspa.it/biospa.htm

Japan

Funakoshi Co., Ltd.
Tel: +81-3-5684 1615
Fax: +81-3-5684 1775
Email: info@funakoshi.co.jp
Web: www.funakoshi.co.jp

Korea

Bio and Information Corp.
Tel: +82-31-7139 439
Fax: +82-31-7139 438
Email: sales@bioninfo.com
Web: www.bioninfo.com

Morebio Inc.

Tel: +82-2-4062 942
Fax: +82-2-4062 942
Email: info@morebio.co.kr
Web: www.morebio.co.kr

Lithuania

Interlux
Tel: +370-5-2786 850
Fax: +370-5-2796 728
Email: spirit@interlux.lt
Web: www.interlux.lt

Malaysia

Helix Biotech
Tel: +60-3-9076 8010
Fax: +60-3-9076 8007
Email: helixbio@tm.net.my
Web: helixbiot.com

Netherlands

Lucron Bioproducts BV
Tel.: +31 485 51 16 75
Fax: +31 485 51 20 52
Email: Lucron@lucron.nl
Web: www.lucronbioproducts.com

New Zealand

Medical & Scientific Ltd.
Tel: +64 96 34 10 36
Fax: +64 96 34 51 46
Email: nzms@nzms.co.nz
Web: www.nzms.co.nz

Northern Ireland

Ulster Anaesthetics Ltd.
Tel: +44-28-9044 8800
Fax: +44-28-9044 9400
Email: info@ua-td.co.uk

Norway

E. Pedersen & Sonn
Tel: +47-22-955 959
Fax: +47-22-955 940
Email: bkp@eped.com
Web: www.eped.com

Poland

STI
Tel: +48 61 641 77 59
Fax: +48 61 641 77 58
Email: office@sti.biz.pl
Web: www.sti.biz.pl

Portugal

Quilaban Lda.
Tel: +21 923 63 50
Fax: +21 923 63 89
Email: quilaban@quilaban.pt
Web: www.quilaban.pt

Russia

Rusbiolink
Tel: 7-903-7761 045
Tel: 7-495-7274 435
Email: mail@rusbiolink.com
Web: www.rusbiolink.com

Slovenia

Kemomed d.o.o.
Tel: +386 4 201 50 50
Fax: +386 4 201 50 55
E-mail: info@kemomed.si
Web: www.kemomed.si

Spain

Labclinics
Tel: +34 3 446 47 00
Fax: +34 3 348 10 39
E-mail: info@labclinics.com
Web: www.labclinics.com

Sweden

ANL-Produkter AB
Tel: +46-8-990 090
Fax: +46-8-992 040
Email: info@anl.se
Web: www.anl.se

Switzerland

Socochim SA
Tel: (fr) +41-21-7210 450
Tel: (dt) +41-61-8510 540
Fax: +41-21-7210 451
Email: info@socochim.ch
Web: www.socochim.ch

Taiwan

Only Science Co., Ltd.
Tel: +886-2-2758 5926
Fax: +886-2-2758 6305
Email: cychen@onlyscience.com.tw
Web: www.onlyscience.com.tw

Thailand

Biomed Diagnostics Co. Ltd.
Tel: +66-2-8796 026
Fax: +66-2-8796 065
Email: somboon@biomedthain.com

Turkey

Genomed Saglik Hizmetleri A.S.
Tel: +90 212 248 20 00
Fax: +90 212 220 15 64
Email: muratyazici@genomedtr.com

United Arab Emirates

Mix Max Trading CCC
Tel: +971-4-3535 756
Fax: +971-4-3538 891
Email: manoj@mixmaxe.com
Web: www.mixmaxe.com

USA (only VenorGeM)

Sigma Aldrich
Tel: +1-314-771 5750
Fax: +1-314-771 5757
Email: sigma@sial.com
Web: www.sigmaaldrich.com