

# Gebrauchsanweisung



## ROTI®Cell Myco-free Lösung

9830

Zur Beseitigung von Mykoplasmenkontaminationen in der Zellkultur. Mykoplasmen-Eradikationslösung, Antibiotikamischung.

### I. Einleitung

Die Kontamination von Zellkulturen durch Mykoplasmen ist ein bekanntes Problem in der Zellbiologie. Mykoplasmen können biochemische sowie immunologische Veränderungen in den Zellen hervorrufen und Ergebnisse stark stören. Mykoplasma-infizierte Zellen können nicht immer entsorgt werden und sie vermehren sich schnell, daher ist es wichtig, die Mykoplasmen in der Zellkultur zu eliminieren. Quelle der Kontamination sind der Anwender selbst oder die Zellkulturreagenzien.

Mykoplasmen haben keine Zellwand. Daher sind sie gegen viele Antibiotika, die sich gegen die Synthese der Zellwand richten, resistent. Folglich wird unsteriles Arbeiten und eine Kontamination mit Mykoplasmen häufig nicht festgestellt, da die Antibiotika, die dem Medium zugesetzt werden, das Wachstum von anderen Bakterien verhindern, während Mykoplasmen sich jedoch uneingeschränkt vermehren können.

### II Produkt

ROTI®Cell Myco-Free ist ein zuverlässiges, schnell wirkendes Reagenz zur Beseitigung von Kontaminationen durch Mykoplasmen und anderen Bakterien in der Zellkultur.

Bei ROTI®Cell Myco-Free handelt es sich um eine sterile Mischung spezieller Antibiotika in PBS, die bereits in sehr niedrigen Konzentrationen wirksam sind. Die Wirkung beruht auf einer spezifischen Störung der bakteriellen Proteinbiosynthese durch Translations-Inhibition

### Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5

76185 Karlsruhe

Postfach 100121

76231 Karlsruhe

Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0

Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149

E-Mail: info@carlroth.de

Internet: www.carlroth.de

gh 01/2020

und Hemmung der Gyrase im Transkriptionsapparat. Eukaryontische Zellen werden nicht beeinflusst.

Besondere Vorteile:

- Einfache Anwendung
- Zuverlässige Eradikation
- Wirksam auf alle Mykoplasmen und Bakterien
- Keine Cytotoxizität bei Standardanwendung

### III. Konzentration und pH

50x Stocklösung in PBS (0,5 mg/ml).  
pH 4,0-4,5.

### IV Gebrauch

Nur für Forschungszwecke. Nicht für diagnostische, therapeutische oder klinische Anwendung an Mensch oder Tier.

Eine Flasche mit 100 ml reicht für ca. 300 Anwendungen.

### V. Lagerung

Dunkel lagern (ROTI®Cell Myco-Free ist leicht licht sensitiv).  
Lagerung bei -20 °C.

Empfehlung: aliquotieren Sie kleine Mengen und lagern Sie diese bei -20 °C.

Kurzzeitlagerung für 1 Woche bei 4 °C möglich.

### VI. Anwendung

1. Entfernen Sie das Kulturmedium aus dem Kulturgefäß und waschen Sie mit PBS. Behandeln Sie die Zellen mit Trypsin oder PBS/EDTA.
2. Beim Passagieren die Zellen gut waschen.
3. Zählen Sie die Zellen und geben Sie die für die Kultivierung notwendige Anzahl in das Kulturgefäß.
4. Geben Sie 2 ml ROTI®Cell Myco-free pro 100 ml Zellkulturmedium zu (1/50 Verdünnung; Arbeitskonzentration: 10 µg/ml).
5. Kultivieren Sie die Zellen für 2 bis 3 Tage.
6. Werden der Zellrasen oder die Suspension zu dicht, passagieren Sie wie gewohnt (gut waschen) und geben Sie nach der Passage wiederum Medium und ROTI®Cell Myco-free auf die Zellen.
7. Testen Sie auf Mykoplasmen nach den gängigen Methoden, z.B. einer PCR-basierten Methode.

Wenn Sie eine Kontamination nachweisen wiederholen Sie die Schritte 1-7 mit einer erhöhten Konzentration von ROTI®Cell Myco-free. Erhöhen Sie eventuell die Anzahl der Passagezyklen.

Die Konzentration von ROTI®Cell Myco-free kann bei Bedarf bis 1/25 (2x) erhöht werden (s. VII. Hinweise).

### VII. Hinweise

Die Gesamtzeit der ersten Eradikationszeit in Medium mit ROTI®Cell Myco-free sollte 7 bis 10 Tage betragen.

Lässt sich nach dieser Inkubationszeit noch eine Mykoplasmen-Kontamination nachweisen, inkubieren Sie nochmals für 7-10 Tage in Medium mit ROTI®Cell Myco-free bei einer Konzentration von 1/40 (1,25x), 1/30 (1,67x) oder 1/25 (2x), je nach Stärke der verbliebenen Kontamination (zweite Eradikationszeit).

Sie können die Zeit, in der Sie ROTI®Cell Myco-free dem Medium zusetzen, beliebig verlängern, allerdings empfehlen wir, bei einer Langzeitzugabe nur die geringste Konzentration zu verwenden. Sehr viele Kontaminationen werden bereits durch die erste Eradikationszeit abgetötet, in aller Regel können die Mykoplasmen spätestens mit einer zweiten Eradikationszeit eliminiert werden.

Bitte beachten Sie:

1. Prüfen Sie jeweils bzw. stellen Sie sicher, dass die Mykoplasmen tatsächlich verschwunden sind. Keine Eradikationslösung kann Ihnen eine 100%ige Erfolgsquote garantieren. Weiterhin kann einige Zeit nach der Eradikation die Kontamination wieder aufflammen, da einzelne Zellen unterhalb der Nachweisgrenzen der Mykoplasmatests liegen.
2. Nur eine vollständige Eradikation verhindert die Entstehung von Antibiotikaresistenzen zuverlässig. Überprüfen Sie die erfolgreiche Eradikation der Mykoplasmen auf jeden Fall mit einer Mykoplasma-Detektionsmethode nach jeder Eradikationszeit.
3. Bei sehr hoher Konzentration von ROTI®Cell Myco-free kann das Antibiotikagemisch bei sensitiven Zellen eine toxische Wirkung haben. Achten Sie daher auf eine mögliche Verringerung der Zellproliferation, oder eine Veränderung der Zellmorphologie. Wenn Sie nach einer Konzentrationserhöhung toxische Effekte sehen, wenden Sie die zuvor verwendete Konzentration von ROTI®Cell Myco-free an.
4. Es kann Kreuzkontamination von anderen Zellkulturen stattfinden. Es ist daher ratsam, alle Zellen regelmäßig auf Mykoplasmen zu testen und möglicherweise kontaminierte Medien, FBS, Trypsin, Puffer auszutauschen.

**ROTI®Cell Myco-free** 100 ml **9830.1**



# Instructions for use

## ROTI®Cell Myco-free Solution

9830

**For the elimination of mycoplasma contamination in cell culture. Mycoplasma eradication solution, antibiotic mixture.**

### I. Introduction

The contamination of cell cultures with mycoplasmas is a well-known phenomenon in cell biology. Mycoplasmas can produce biochemical and immunological changes in cells and thereby radically alter results. Mycoplasma-infected cells cannot always be discarded, and they multiply rapidly. Thus, it is important to eliminate mycoplasmas from cell cultures. The source of the contamination is often the user, or cell culture reagents.

Mycoplasmas lack a cell wall. Hence, they are resistant to many antibiotics that direct their effects towards the bacterial cell wall. Subsequently, mycoplasma contamination may often not be detected in the cell culture medium, since, while the antibiotics added to the medium prevent growth of other bacteria, mycoplasmas can proliferate unrestricted.

### II Product

ROTI®Cell Myco-Free is a reliable, fast-acting reagent for the elimination of contamination by mycoplasmas and other bacteria in cell culture.

ROTI®Cell Myco-Free is a sterile mixture of specific antibiotics in PBS, which are already effective at very low concentrations. The antibiotic action is based on the specific disruption of bacterial protein biosynthesis by impeding translation and inhibiting the gyrase of the transcription apparatus. Eukaryotic cells are not affected.

### Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5  
76185 Karlsruhe  
Postfach 100121  
76231 Karlsruhe  
Telefon: +49 (0) 721/ 5606-0  
Telefax: +49 (0) 721/ 5606-149  
E-Mail: [info@carlroth.de](mailto:info@carlroth.de)  
Internet: [www.carlroth.de](http://www.carlroth.de)

gh 01/2020

Advantages:

- Simple application
- Reliable eradication
- Effective on all mycoplasmas and bacteria
- No cytotoxicity with standard application

### III. Concentration and pH

50x stock solution in PBS (0,5 mg/ml).  
pH 4,0-4,5.

### IV. Use

Only for research purposes. Not for diagnostic, therapeutic, or clinical use on humans or animals.

A 100ml bottle is enough for 300 applications.

### V. Storage

Store in the dark (ROTI®Cell Myco-Free is slightly light sensitive).  
Store at -20 °C.  
We recommend you prepare small aliquots for storage at -20 °C.  
Short term storage: 4 °C for 1 week is possible.

### VI. Method

1. Remove the culture medium from the flask and wash with PBS. Treat cells with trypsin or PBS/EDTA.
2. Wash cells thoroughly when passaging.
3. Count cells and add the appropriate cell number, required for culturing the cells, into the cell culture flask.
4. Add 2 ml ROTI®Cell Myco-free per 100 ml cell culture medium (1/50 dilution; working concentration: 10 µg/ml).
5. Cultivate the cells for 2-3 days.
6. If the cell layer or suspension grows too dense, passage cells as usual (wash well) and subsequently add medium plus ROTI®Cell Myco-free to the cells.
7. Test for mycoplasmas using standard methods e.g. a PCR-based method.

If the test shows positive for mycoplasma contamination, repeat steps 1-7 and increase the concentration of ROTI®Cell Myco-free. You may need to increase the number of passages.

The concentration of ROTI®Cell Myco-free can be increased to 1/25 (2x), if required (s. VII. Suggestions)

### VII. Suggestions

The overall time for the initial eradication time in medium plus ROTI®Cell Myco-free should be 7 to 10 days.

If you can still detect Mycoplasma contamination following this incubation time, incubate for a further 7-10 days in medium plus ROTI®Cell Myco-

free at a concentration of (1,25x), 1/30 (1,67x) or 1/25 (2x), depending on the magnitude of residual contamination (2nd eradication time).

You can keep ROTI®Cell Myco-free in the medium for extended time periods, but in that case, please use the lowest concentration of ROTI®Cell Myco-free. Most mycoplasmas will be removed after the first eradication time. Generally, all mycoplasmas will usually have been successfully eliminated after the second eradication time.

Please note:

1. It is important to always test for mycoplasmas after each eradication time, to ensure that they have been completely removed. No eradication solution can guarantee 100% successful removal. In addition, the contamination can potentially reappear after some time, as single cells can be below the mycoplasma test's detection limits.
2. Complete mycoplasma removal should be ensured to prevent the development of antibiotic resistances. Please check for successful mycoplasma eradication using a mycoplasma detection method after each eradication time.
3. Very high concentrations of ROTI®Cell Myco-free can have toxic effects on sensitive cells. Please observe your cells to detect if there is a possible decrease in cell proliferation, or any possible changes in cell morphology. If you can see any toxic effects on the cells after increasing the concentration, use the previously used concentration of ROTI®Cell Myco-free.
4. Cell cultures can be cross-contaminated by other cell cultures. Hence, we recommend regular testing of all cells for mycoplasma contamination. Exchange contaminated media, FBS, trypsin and buffers with fresh cell culture reagents.

**ROTI®Cell Myco-free** 100 ml **9830.1**