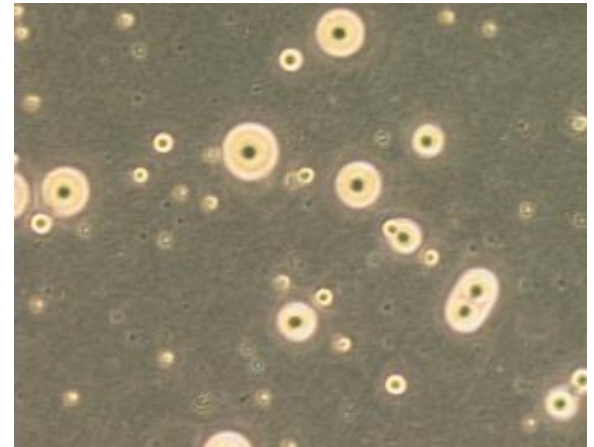


MycoAlert™ PLUS Mycoplasma Detection Kit
Kit para Detecção de Micoplasma

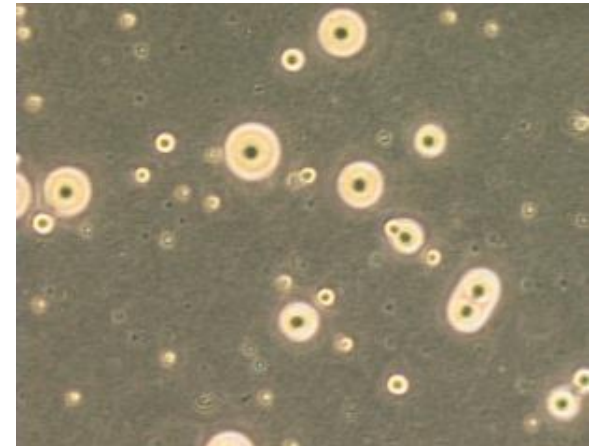
O que é Micoplasma?

- **Micoplasma** é o nome que foi dado às bactérias do gênero *Mycoplasma*, com tamanho menor do que o apresentado normalmente pelas outras bactérias.
- Micoplasmas possuem apenas uma membrana flexível, muito pequena que dificulta a sua identificação.
- Invisível ao Microscópio

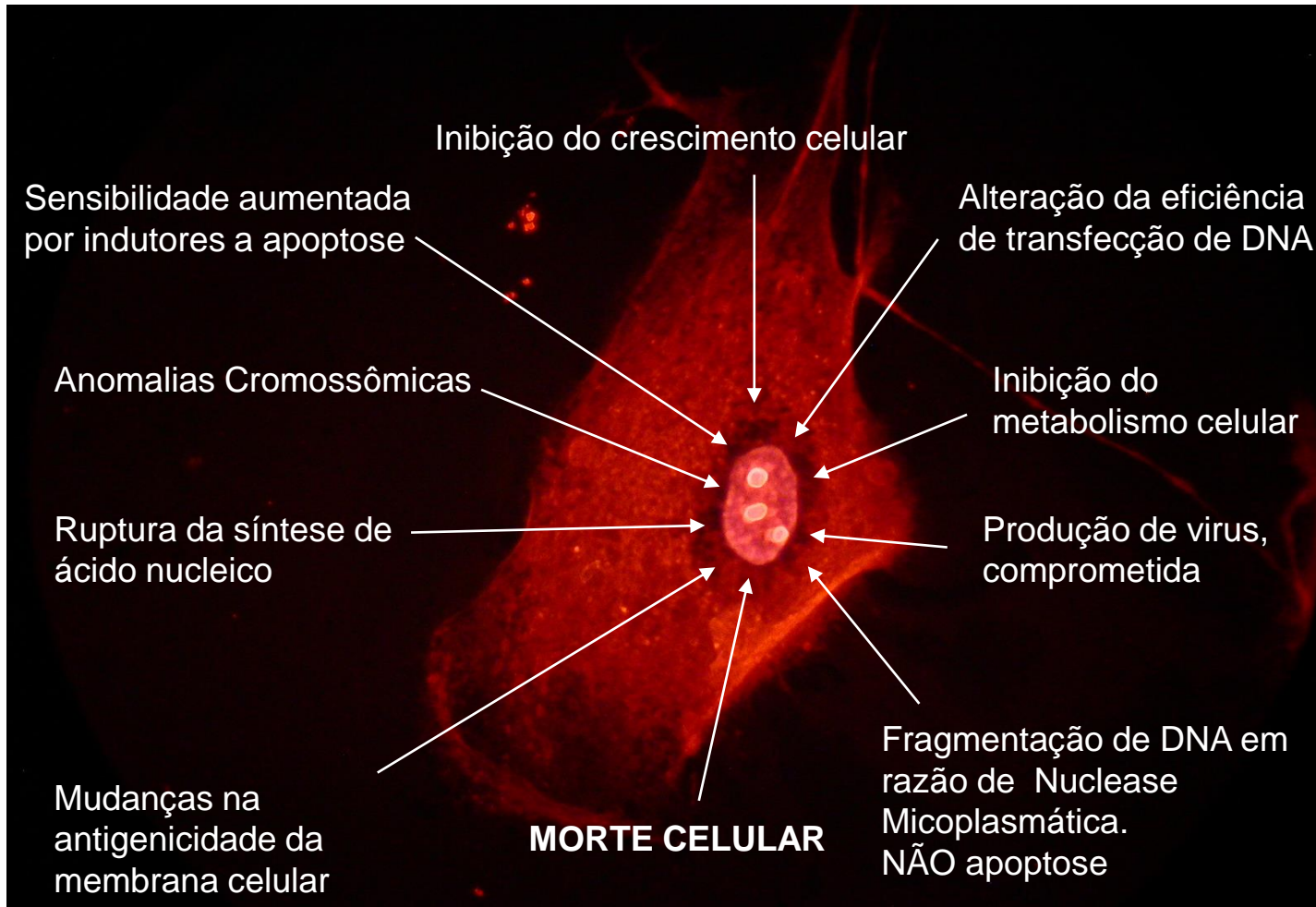


O que é Micoplasma?

- O menor e mais simples dos Procariontes
 - Tamanhos variam de 0,2 a 0,8 μM
 - Muitas espécies não são removidas por filtração
 - Não podem ser visualizados, inclusive em concentrações muito elevadas
- Carência de parede celular rígida
 - Não afetado por antibióticos tradicionais usados em culturas de células
- Capacidade de biosíntese limitada
 - Utilizam nutrientes de “hospedeiros”



Efeitos do Micoplasma nas Células

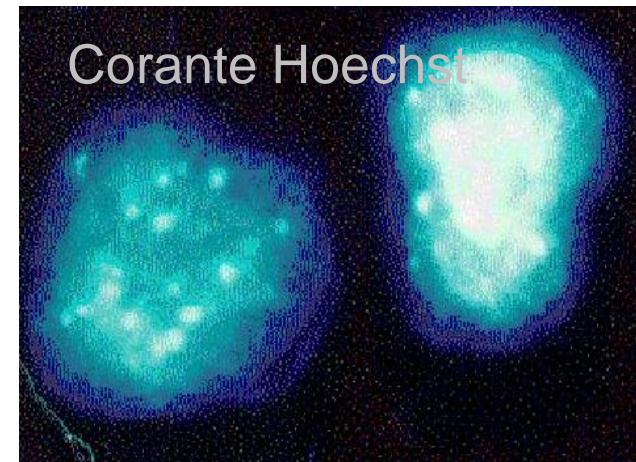
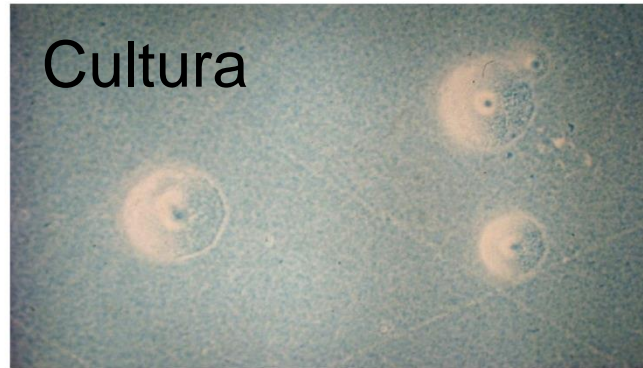


- Cultivos celulares podem ser contaminados por diversas espécies do gênero *Mycoplasma*. A contaminação ocorre diretamente através da manipulação pelo pessoal técnico ou pela formação de aerossóis durante o processo de tripsinização em repiques celulares ou indiretamente por reagentes utilizados nos meios de manutenção como o soro fetal bovino.
- Contaminações por *Mycoplasma* podem causar alterações nas células infectadas, como mudanças nas características da replicação e crescimento celular, na composição e estrutura da membrana plasmática. Elas implicam a inutilização de uma linhagem celular infectada, pois tais mudanças podem interferir com as características morfológicas e fisiológicas das células, assim como impedir ou dificultar o ciclo de infecção e/ou replicação de um determinado vírus nesses cultivos infectados. Além disso, tais contaminações podem tornar experimentos e produtos biológicos inviáveis.

- Contaminação cruzada de culturas infectadas
- Equipe do laboratório
- Reagentes de cultura (p.ex. soro bovino)
- Tecido original isolado (<1%)

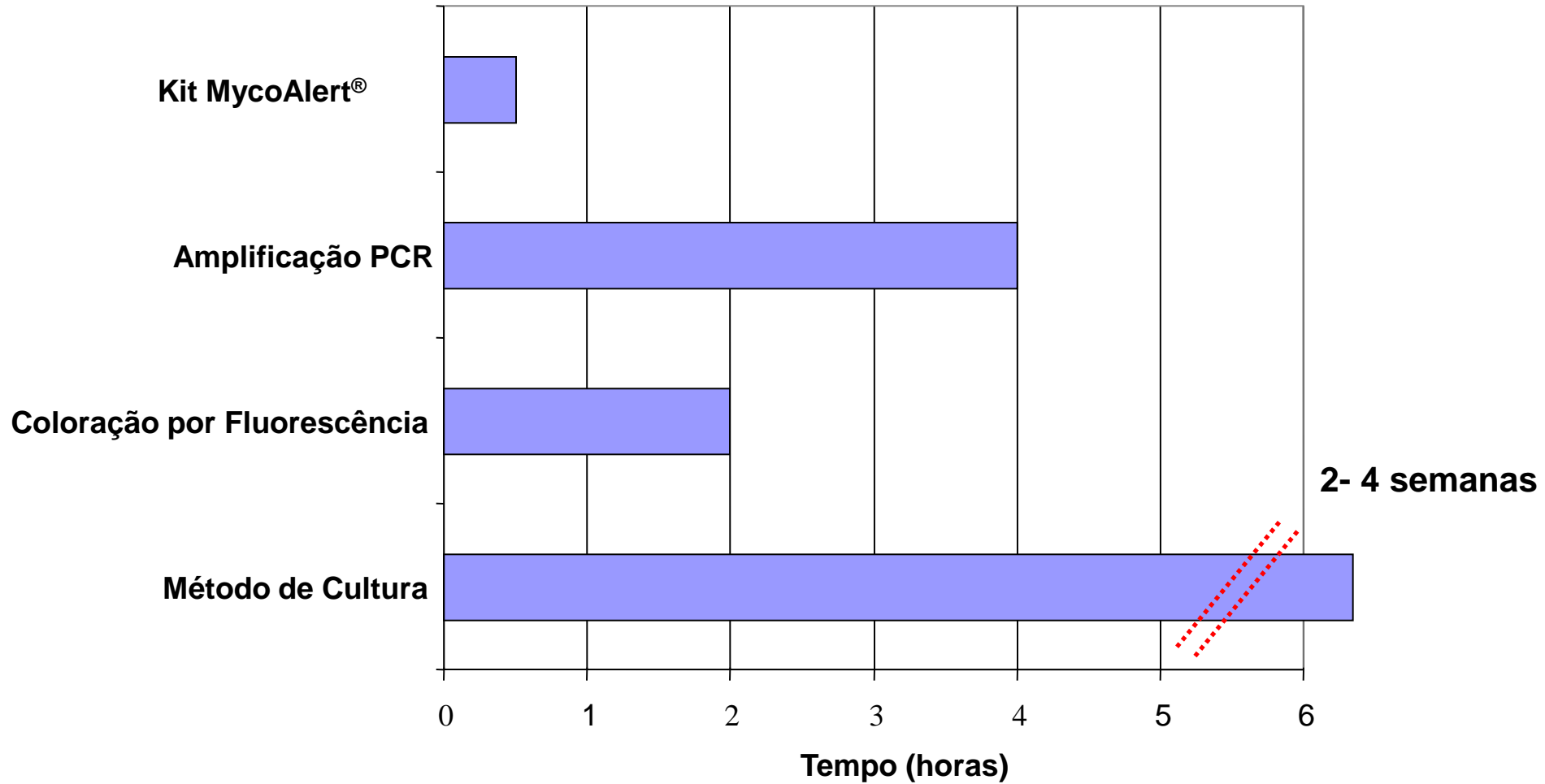
Métodos de Detecção de Micoplasma

Lonza



Métodos de Detecção de Micoplasma

Lonza



MycoAlert™ Kit para Detecção de Micoplasma

- Único ensaio bioluminescente para a detecção de micoplasma em cultura de células, em 20 minutos.
- **Mecanismo:** O ensaio detecta a atividade de duas enzimas encontradas no micoplasma e outros mollicutes
 - As enzimas estão associadas com vias de produção de energia, que resultam na síntese de ATP
 - As enzimas são encontradas em todos os 6 dos principais contaminantes da cultura de células de micoplasma e na maioria das espécies mollicute.
 - Sendo um ensaio enzimático, o Kit MycoAlert™ só detecta mollicutes viáveis (ao contrario dos outros testes que detectam micoplasmas viáveis e não viáveis, levando a um resultado falso-positivo).
 - As enzimas não são encontradas em células eucarióticas.

Protocolo – MycoAlert PLUS

Prepare a amostra de acordo com o protocolo



Reconstituir MycoAlert PLUS Reagent e MycoAlert PLUS Substrate em MycoAlert PLUS Assay Buffer
Tempo de Equilibrio 15 minutos em temperatura ambiente



Adicionar MycoAlert PLUS Reagent na amostra
Incubar por 5 minutos



Medir a Luminescencia
Leitura A

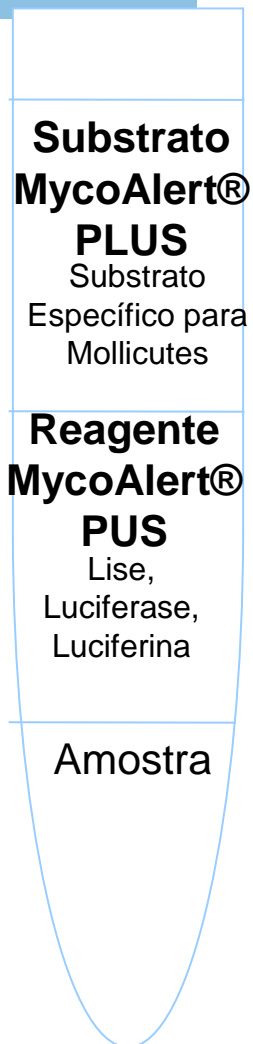


Adicionar MycoAlert PLUS Substrate na amostra
Incubar por 10 minutos



Medir a Luminescencia
Leitura B

MycoAlert™ Kit para Detecção de Micoplasma



10 min

B

5 min

A

Resultados

Se $B/A < 1$ = negativo

Se $B/A > 1.2$ = **positivo**

Se $1 < B/A < 1.2$ = Quarentena

Apresentação – Kit MycoAlert™ PLUS



CODIGO	DESCRIÇÃO
LT07-701	MycoAlert PLUS mycoplasma detection kit (10 test)
LT07-703	MycoAlert PLUS mycoplasma detection kit (30 test)
LT07-705	MycoAlert PLUS mycoplasma detection kit (50 test)
LT07-710	MycoAlert PLUS mycoplasma detection kit (100 test)
LT27-292	MycoAlert PLUS buffer (21mL)

Resumo

■ Universal

- Detecta todas as contaminações por micoplasma e acoleplasma
- Sem interferência com os componentes do meio

■ Sensível

- Detecta < 50 ufc/ml de micoplasma
- Evite resultados falso-negativos frequentemente encontrados com métodos clássicos

■ Conveniente e rápido

- Baste adicionar 2 reagentes no sobrenadante da cultura
- Realize duas leituras de luminescência
- Resultados em < 20 min

Informações

- **Site:**

- <http://www.lonza.com/products-services/bio-research/cell-culture-products/mycoplasma-detection-and-removal/mycoalert-plus-mycoplasma-detection-kit.aspx>

- **Video:**

- <http://youtu.be/HZqduOraGjo>

- **Protocolo:**

- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_MycoAlert_PLUS_Mycoplasma_Detection_Kit_-_Full_Instructions.pdf

MycoAlert™ Assay Control Set – Controle Positivo (Vendido separadamente)

O **MycoAlert™ Assay Control Set (Código LT07-518)** inclui um controle positivo liofilizado e tampão de ensaio para a reconstituição. O tampão de ensaio, também serve como um Controle negativo. Os Controles positivos e negativos foram concebidos para utilização com o **MycoAlert™ PLUS Mycoplasma Detection Kit**.

É recomendado sempre utilizar o Controle Positivo para garantir que o teste funcionará adequadamente. O controle positivo não contém micoplasma. O controle positivo ou negativo é simplesmente substituído por uma amostra no protocolo de ensaio padrão. O controle positivo vai dar uma razão de > 1 enquanto que o controle negativo se dá uma razão de < 1 .

MycoAlert™ Assay Control Set – Controle Positivo (Vendido separadamente)

- Protocolo:

http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_Instructions_-_MycoAlert_Assay_Control_Set_LT07-518.pdf

Lucetta Luminômetro

- Luminômetro de tubo portátil, pequeno e sem exigências de computador
- Alta sensibilidade e linearidade
- *Detecção de menos que 50mol ATP, ou menos que 1000 moléculas de luciferase em um ensaio de gene relatado*
- *Faixa dinâmica de 5.5 ordens de magnitude*
- Dois modelos básicos de medição, incluindo um modelo feito sob medida para o Ensaio de Detecção de Micoplasma MycoAlert®



Lucetta Luminômetro

- Alta capacidade de armazenamento de dados, com armazenamento máximo de até 1500 leituras individuais.
- *Opcionalmente, resultados da amostra podem ser carregados para um Computador Portátil e visualizado e analisados com Microsoft® Excel®*



Lucetta Luminômetro

- Benefícios
 - Ampla faixa de aplicações, como por exemplo, ensaios de citotoxicidade ou proliferação de células a base de ATP.
- Informações Adicionais:
- Descrição: Luminômetro Lucetta
- Código: AAL-1001
- Dimensões (w x d x h) 175 x 112 x 140 mm (6.89 x 4.41 x 5.51 polegadas)
- Peso: 1.35 kg



Informações – Lucetta Luminometro

■ Site:

- <http://www.lonza.com/products-services/bio-research/cell-culture-products/mycoplasma-detection-and-removal/lucetta-luminometer.aspx>

■ Protocolos:

- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Manual_sProductInstructions_For_MycoAlert_Mycoplasma_Detection_Assay_Lucetta_Luminometer_Quick_Start_Guide.pdf
- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Manual_sProductInstructions_Lucetta_Luminometer_Quick_Start_Guide_For_ToxiLight_Non-destructive_Cytotoxicity_Assay.pdf
- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Manual_sProductInstructions_Lucetta_Luminometer_Quick_Start_Guide_For_ViaLight_Cell_Proliferation_and_Cytotoxicity_Assay.pdf

Informações – Lucetta Luminometro

- **Protocolos:**
- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Manual_sProductInstructions_Lucetta_Luminometer_Manual.pdf
- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Manual_sProductInstructions_Lucetta_Luminometer_Additional_Instructions_for_PC_Data_Upload.pdf
- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Bench_Guides_TechSheet_List_of_Bioassay-Compatible_Luminometers.pdf

MycoZap™ - Kit Para Eliminação de Micoplasma

- Universal: erradica moleculas (micoplasma, acoleplasma, espiroplasma, entomoplasma)
- Eliminação total de micoplasma usando uma combinação de agentes antibióticos e anti-metabólicos
- Mínimos efeitos tóxicos
- Adequado para todas as culturas celulares

Código	Descrição
LT07-818	MycoZap 1 Treatment Kit
LT07-918	MycoZap 5 Treatment Kit

MycoZap™ - Kit Para Eliminação de Micoplasma

- **Site:**

- <http://www.lonza.com/products-services/bio-research/cell-culture-products/mycoplasma-detection-and-removal/mycozap-mycoplasma-elimination-reagent.aspx>

- **Protocolo:**

- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_Manual_sProductInstructions_MycoZap_-_Mycoplasma_Elimination_Reagent.pdf

Antibióticos MycoZap™ - Prevenção

- São combinações extremamente poderosas de antibióticos inovadores para a proteção de culturas de células por contaminação por micoplasma.

- **MycoZap™ Profilático**

Benefícios

- Especificamente previne a contaminação por micoplasma
- Também é ativo contra outras espécies do grupo micoplasma como Acoleplasma e Espiroplasma

Aplicações

- Pode ser usado em combinação com outros antibióticos (por exemplo, Pen/Strep) para prevenir outros contaminantes microbianos

Antibióticos MycoZap™ - Prevenção

■ MycoZap™ Plus-CL e MycoZap™ Plus-PR

Benefícios

- Ativo contra micoplasma, bactérias Gram (-) e Gram (+), bem como leveduras e fungos
- Solução completa substituindo formulação Pen/Strep

Aplicações

- MycoZap™ Plus-CL para a proteção de linhagem celular
- MycoZap™ Plus-PR otimizado para proteção de células primárias

Antibióticos MycoZap™ - Prevenção

Código	Descrição
VZA-2011	MycoZap™ Plus-CL (10 x 1 ml)
VZA-2012	MycoZap™ Plus-CL (1 x 20 ml)
VZA-2021	MycoZap™ Plus-PR (10 x 1 ml)
VZA-2022	MycoZap™ Plus-PR (1 x 20 ml)
VZA-2031	MycoZap™ Prophylactic (10 x 1 ml)
VZA-2032	MycoZap™ Prophylactic (1 x 20 ml)

Antibióticos MycoZap™ - Prevenção

- Site:
- <http://www.lonza.com/products-services/bio-research/cell-culture-products/reagents/antibiotics-antimycotics/mycozap-antibiotics.aspx>
- Datasheet:
- http://bio.lonza.com/uploads/tx_mwaxmarketingmaterial/Lonza_ManualsProductInstructions_MycoZap_Antibiotics.pdf

Dúvidas:

Melissa Justino

melissa.justino@lonza.com

Tel: 11 98871-3943

OBRIGADA!!!