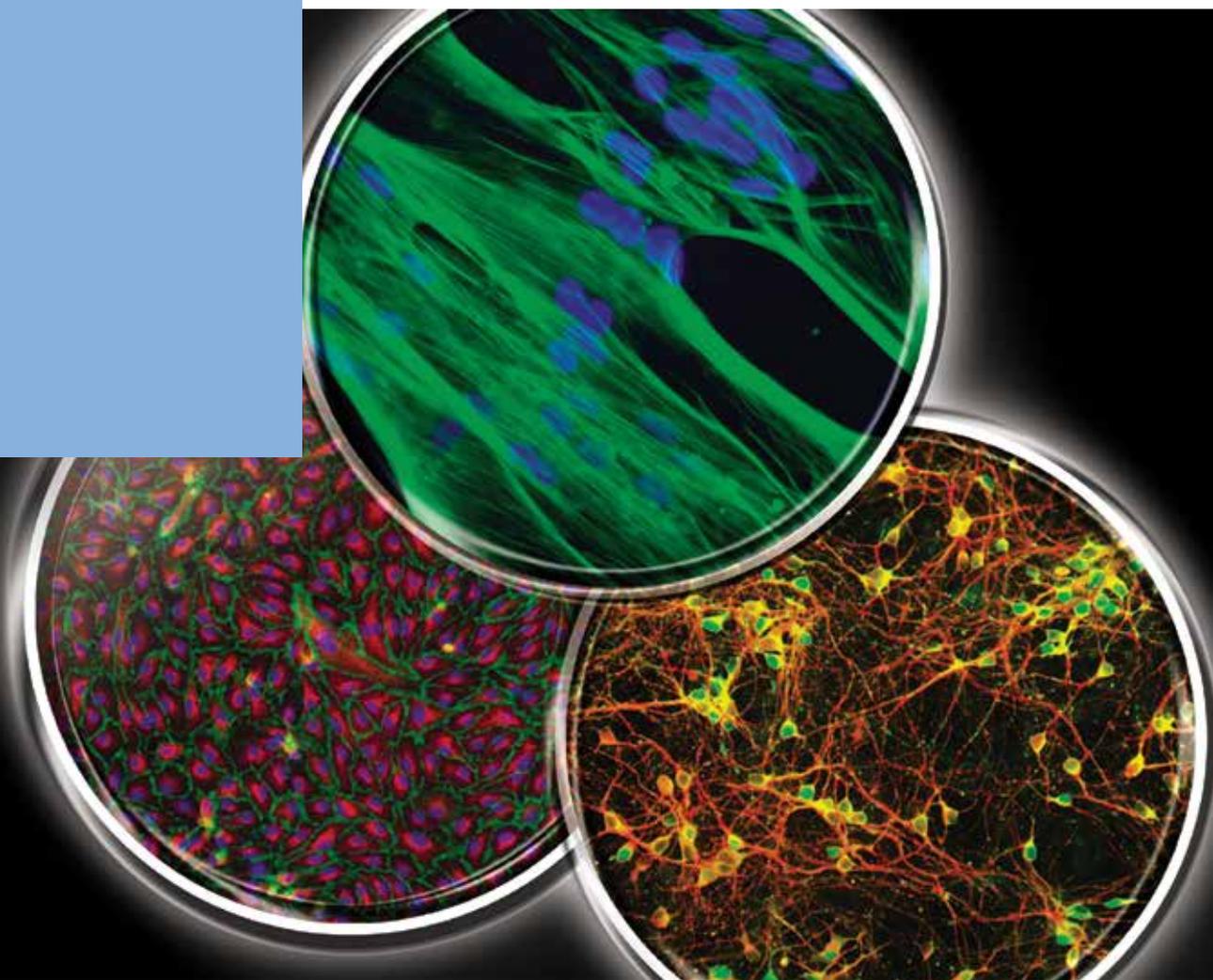


4 マイコプラズマの検出・予防試薬



| | |
|---------|-----|
| 検出 | 147 |
| 検出・予防試薬 | 149 |

マイコプラズマの検出・予防試薬

はじめに 145

検出

MycoAlert™ マイコプラズマ検出キット 148

除去・予防

MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬 150

MycoZap™ 抗生物質 151

はじめに

細胞培養を行っている研究室に存在する一般的な汚染源はマイコプラズマです。少なく見積もっても、連続細胞培養全体の15~35%がマイコプラズマに汚染され、ある試算によると、汚染率はそれよりも高く(一部の国では最大80%)なっています。

マイコプラズマとは？

- *Mycoplasma*, *Acholeplasma*, *Ureaplasma*, *Entomoplasma*, *Spiroplasma* およびその他の種を含むモリキュート科に属す
- 最小の自由生活・自己複製性微生物 (大きさ:0.2 μm~0.8 μm)
- 細胞壁を持たない単純な原核細胞 (単一の原形質膜に覆われている)
- 通常細胞膜の外表面に付着
- 生合成能が限られているため多くの栄養素を宿主に依存
- 180種以上が報告
- 細胞培養のマイコプラズマ汚染は主に6種のマイコプラズマによるもの(*M. orale*, *M. arginii*, *M. fermentans*, *M. salivarum*, *M. hyorhinitis*, *A. laidlawii*)
- ヒト、哺乳類、は虫類、昆虫および植物の寄生体として自然界に蔓延

細胞培養における典型的なマイコプラズマ汚染経路

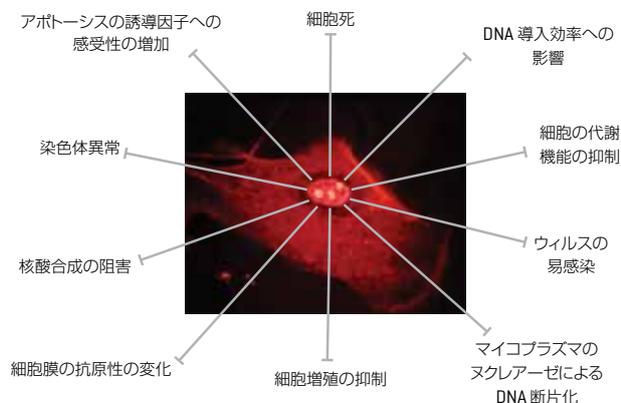
- 未検査の汚染細胞からの二次汚染
- ピペット操作中に発生する気泡
- 異なる細胞型に対して同一ボトルの培地の使用
- 同一クリーンベンチ内での複数の細胞株の同時処理
- 汚染された材料
- 汚染されたドナーの組織
- 研究者からの直接感染

マイコプラズマの潜伏性

汚染の検出・防止は非常に困難であり、マイコプラズマの存在が数カ月間検出されないことがあります。

- 細菌とは異なり、濁度または pH に明白な変化がない
- 10⁷ cfu/ml 超の非常に高い濃度でも顕微鏡下で可視化されない
- 細胞培養で日常的に使用される抗生物質が効かない
- 通常のろ過で除去できない

マイコプラズマが細胞に与える影響とは？



マイコプラズマ汚染は、実験結果の信頼性、再現性および一貫性に重大な影響を及ぼす可能性があり、基礎研究および生物製剤の製造において重大な問題になります。マイコプラズマの標準検査は、細胞培養プロトコルに組み込まれるべき重要な品質管理手段です。ロンザは、マイコプラズマ汚染の確実な検出、除去および防止を行う強力な製品を提供しています。

- **MycoAlert™ マイコプラズマ検出キット** – 正確で信頼性のある一般的なマイコプラズマ検出キット
- **MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬** – 細胞毒性を低く抑えた状態でマイコプラズマ除去が可能
- **MycoZap™ 予防試薬** – 抗生物質と組み合わせてマイコプラズマ感染を防止
- **MycoZap™ Plus-CL および Plus-PR** – グラム陽性細菌およびグラム陰性細菌、真菌、マイコプラズマなどの広範囲に及ぶ微生物汚染を防止

参考文献

1. Drexler H.G., Uphof C.C. [2002] *Mycoplasma contamination of cell cultures: Incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention. Cytotechnology* 39: 75–90.
2. Koshimizu K., Kotani H. [1981] in: *Procedures for the Isolation and Identification of Human, Animal and Plant Mycoplasmas* [Nakamura M., ed.], Saikon, Tokyo, 87-102.

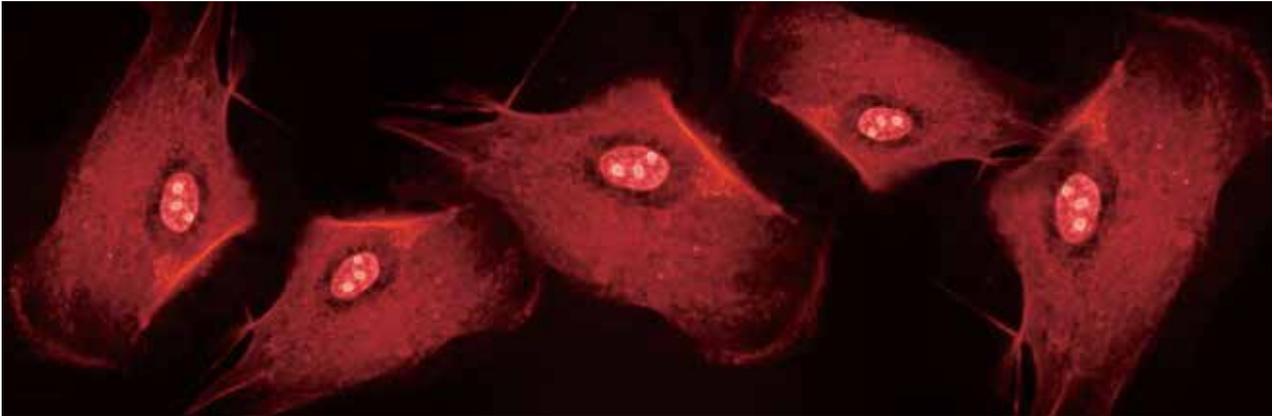
 www.lonza.com/mycoplasma

Notes

4

マイクロプラズマの検出・予防試薬

検出



検出

MycoAlert™ マイコプラズマ検出キット

148

4

マイコプラズマの検出・予防試験 / 検出

MycoAlert™ マイコプラズマ検出キット

MycoAlert™ マイコプラズマ検出キットは、180種のマイコプラズマの大部分(細胞培養汚染の主要原因となっている6種のマイコプラズマを全て含む)に存在し、真核細胞には存在しないマイコプラズマ酵素の活性を利用した高度な生化学検査キットです。サンプル内の生存マイコプラズマは溶解され、酵素がMycoAlert™ 基質と反応し、ADP から ATP へ変換触媒されます。MycoAlert™ 基質の添加前(測定A)および添加後(測定 B)のサンプル内 ATP レベルを測定することにより比率が算出され、この比率により、マイコプラズマの存在の有無が示されます。

■ 利点

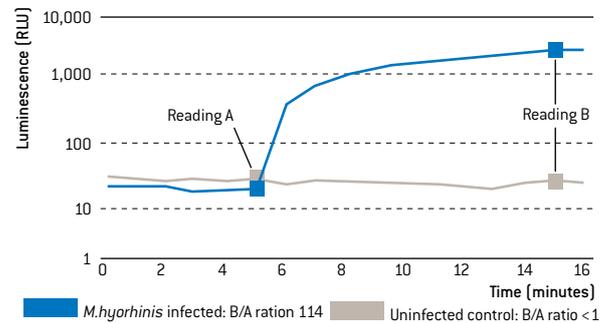
- 簡単な2段階アッセイで20分以内に結果を判定
- 寒天培養と同程度の精度
- PCR または染色法で頻繁に起こる偽陰性結果を回避
- 低いマイコプラズマ汚染レベル(50 cfu/ml 未満)でも高感度な検出が可能
- 検査の性能をモニターできる便利な酵素アッセイコントロール

■ 用途

- 一般的なマイコプラズマおよびアコレプラズマ汚染をすべて検出
- 現在までに44のモリキュート種で検査済み
- 細胞培養スクリーニングに最適
- 培地成分による干渉は最小限

 www.lonza.com/mycoplasma

アッセイの原理



MycoAlert™ キットを使ってアッセイしたマイコプラズマ非感染細胞と感染細胞の発光キネティクス。B/A の割合はマイコプラズマの有無を示す。

マイコプラズマ検出法の比較

| A. laidlawii [cfu/ml] | 培養法 | 蛍光法 | PCR法 | MycoAlert™ |
|-----------------------|-----|-----|------|------------|
| 0 | Neg | Neg | Neg | Neg |
| 20 | Pos | Pos | Neg | Pos |
| 200 | Pos | Pos | Pos | Pos |
| 20,000 | Pos | Pos | Pos | Pos |
| 200,000 | Pos | Pos | Neg | Pos |

HepG2 細胞に *A. laidlawii* sp. を感染させ、それぞれの検出法を比較した。スタンダードアッセイは独立したラボで行った。B/A の割合はマイコプラズマの有無を示している。

シングルアッセイにもマルチプレートアッセイにも対応可能なシンプルなプロトコル



オーダー情報

| カタログ番号 | 製品名 | 保管条件 | サイズ | 定価 |
|----------|--|---------|------|----------|
| LT07-118 | | | 10回 | 26,900円 |
| LT07-218 | MycoAlert™ マイコプラズマ検出キット | 2℃ - 8℃ | 25回 | 50,300円 |
| LT07-318 | MycoAlert™ Detection Kit | | 100回 | 120,000円 |
| LT07-418 | | | 50回 | 71,000円 |
| LT07-518 | MycoAlert™ アッセイコントロールセット MycoAlert™ Assay Control Set | 2℃ - 8℃ | 10回 | 25,900円 |

| 関連製品 | ページ |
|----------------------|-----|
| MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬 | 150 |
| MycoZap™ Antibiotics | 151 |

除去・予防



除去・予防

| | |
|----------------------|-----|
| MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬 | 150 |
| MycoZap™ 抗生物質 | 151 |

MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬

MycoZap™ 試薬は、検出可能なマイコプラズマ汚染をわずか4日で除去することができ、感染細胞への毒性を最小限に抑えてマイコプラズマを除去することができます。MycoZap™ 試薬は、抗生物質と代謝拮抗剤を組み合わせることで使用することによりマイコプラズマを除去します。このアプローチにより、抗生物質のみの使用では困難な信頼性の高いマイコプラズマ除去が可能です。MycoZap™ 試薬は、細胞培養において *Mycoplasma*, *Acholeplasma*, *Spiroplasma*, *Entomoplasma* などのモリキュート科の種を根絶するために使用します。

■ 利点

- 抗生物質と代謝拮抗剤を組み合わせることで効果的にモリキュートを除去
- 最小限の細胞毒性作用

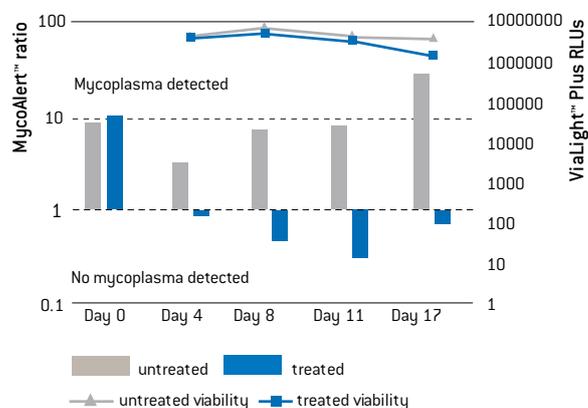
■ 用途

- *Mycoplasma*, *Acholeplasma*, *Spiroplasma*, *Entomoplasma* の除去
- あらゆる細胞培養に広く適用

 www.lonza.com/mycoplasma



細胞に対する低い毒性でマイコプラズマを除去



MycoZap™ 試薬で4日間処理した細胞は、マイコプラズマが検出されなかった (MycoAlert™ アッセイにより検定)。また、この処理による細胞の生存率はほとんど見られなかった (ViaLight™ アッセイにより検定)。

オーダー情報

| カタログ番号 | 製品名 | 保管条件 | サイズ | 定価 |
|----------|---|---------|-----|----------|
| LT07-818 | MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬 | 2℃ - 8℃ | 1回 | 27,600円 |
| LT07-918 | MycoZap™ Mycoplasma Elimination Reagent | | 5回 | 120,000円 |

| 関連製品 | ページ |
|------------------------------|-----|
| MycoAlert™ PLUS マイコプラズマ検出キット | 150 |
| MycoZap™ Antibiotics | 151 |

MycoZap™ 抗生物質

MycoZap™ 抗生物質は、マイコプラズマ汚染から細胞培養を保護するための、強力な独自の抗生物質の組み合わせです。MycoZap™ 予防試薬がマイコプラズマ汚染を防止し、MycoZap™ Plus は、マイコプラズマをはじめとする幅広い一般的な汚染原因微生物による汚染を完全に防止します。

MycoZap™ 予防試薬

■ 利点

- 特にマイコプラズマ汚染を防止
- *Acholeplasma* や *Spiroplasma* などのマイコプラズマグループにも有効

■ 用途

- その他の微生物汚染を防止するため他の抗生物質 (例:ペニシリン/ストレプトマイシン)と組み合わせて使用可能

MycoZap™ Plus-CL および MycoZap™ Plus-PR

■ 利点

- マイコプラズマ、グラム陽性細菌およびグラム陰性細菌、酵母や細菌に有効
- ペニシリン/ストレプトマイシンに代わる理想的な溶液

■ 用途

- 細胞株の保護に使用可能な MycoZap™ Plus-CL
- 初代培養細胞の保護のために最適化された MycoZap™ Plus-PR

 すぐ使用：2℃ – 8℃
長期保存：18℃以下



| | マイコプラズマのみ それ以外の微生物を含む | | |
|--|-----------------------|---------------------|---------------------|
| | MycoZap™ 予防試薬 | MycoZap™ Plus-CL | MycoZap™ Plus-PR |
| マイコプラズマの 予防 | ■ | ■ | ■ |
| 予防対象となる菌 - グラム陽性菌 - グラム陰性菌 - 真菌 - 酵母 | No; 他の抗生物質との併用は可能 | ■ | ■ |
| 初代細胞への使用 | ■ | | ■ |
| 細胞株への使用 | ■ | ■ | |

 www.lonza.com/mycoplasma

オーダー情報

| カタログ番号 | 製品名 | 保管条件 | サイズ | 定価 |
|----------|-----------------------------|---------|-----------|----------|
| VZA-2011 | MycoZap™ Plus-CL 抗生物質 | 2℃ – 8℃ | 10 × 1 ml | 28,000 円 |
| VZA-2012 | MycoZap™ Plus-CL Antibiotic | | 1 × 20 ml | 40,000 円 |
| VZA-2021 | MycoZap™ Plus-PR 抗生物質 | 2℃ – 8℃ | 10 × 1 ml | 32,000 円 |
| VZA-2022 | MycoZap™ Plus-PR Antibiotic | | 1 × 20 ml | 45,000 円 |
| VZA-2031 | MycoZap™ 予防薬 | 2℃ – 8℃ | 10 × 1 ml | 25,000 円 |
| VZA-2032 | MycoZap™ Prophylactic | | 1 × 20 ml | 34,000 円 |

| 関連製品 | ページ |
|------------------------------|-----|
| MycoAlert™ PLUS マイコプラズマ検出キット | 148 |
| MycoZap™ マイコプラズマ除去試薬 | 150 |

Notes

4

マイクロプラズマの検出・予防試験 / 除去・予防