

Naica Systemアプリケーションノート 特定微生物種の網羅的検出

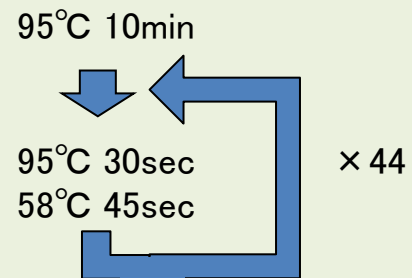
マイコプラズマ種の検出

近年では再生医療分野の発展に伴い、特定の微生物やウイルスが検出されないことを証明するために、品質検査が行われる。本アプリケーションノートでは、日本薬局方に記載されているマイコプラズマ否定試験で検査対象となっている7種類のマイコプラズマをNaica Systemを用いて網羅的に検出する。

サンプル調整

Mycoplasma DNA*	1.0 μ L
PCR Primer Mix (12.5 μ M) **, ***	4.0 μ L
Fluorescence Probe (12.5 μ M) **, ****	1.0 μ L
Fluorescein (1 μ M)	2.5 μ L
PerfeCTa Multiplex qPCR Tough Mix	5.0 μ L
Water	12.5 μ L

PCR条件



*: Mycoplasmaサンプルは、*M.famentans*, *M.pneumoniae*, *M.hyorhinis*, *M.arginine*, *M. orale*, *M.salivarium*, *A.laidlawii*のスタンダードサンプル (10⁶ copies/ μ L)を1,000 - 10 copies/ μ Lに希釈して用いた。

** : PrimerおよびProbeは全てHPLC精製品を使用

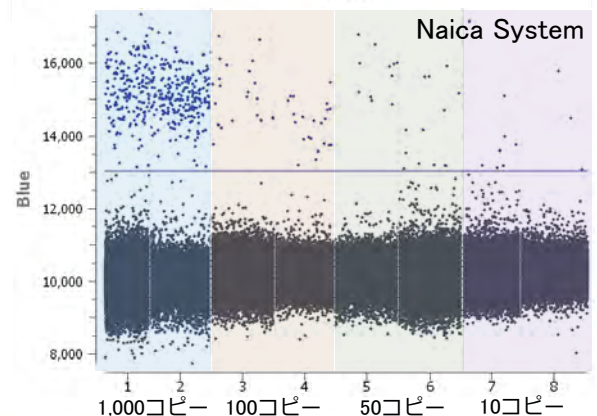
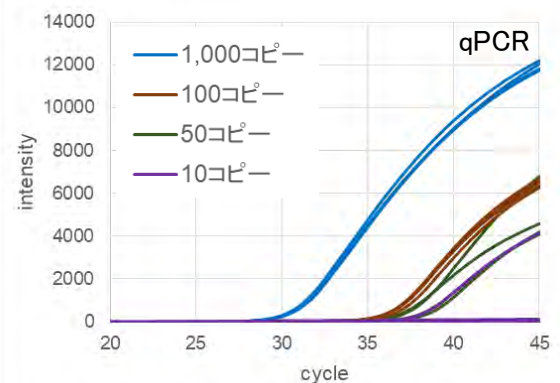
*** : Forward Primerは全6種類、Reverse Primerは1種類を全て同濃度で混合して使用

**** : FAM-Probeは2種類を全て同濃度で混合して使用

*M. orale*の定量結果

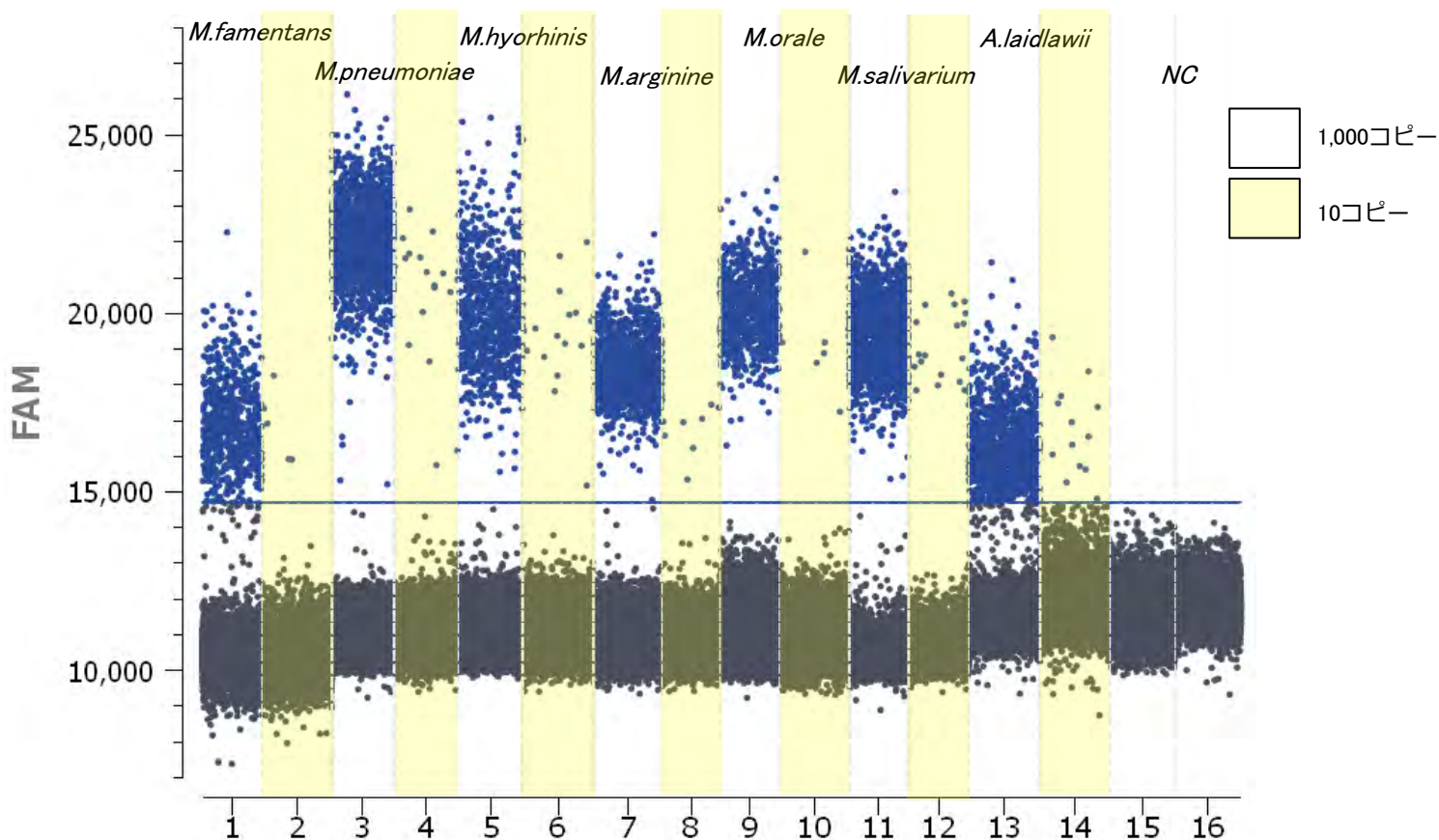
日本薬局方に記載されている*M. orale*をqPCRおよびNaica Systemを用いて定量を行った。qPCRでは10コピーのサンプルでは、N=4に対して1サンプルでしか*M. orale*が検出されなかったが、Naica Systemでは10コピーのサンプルでも再現性良く検出できており、非常に高感度に検出できている。

サンプル コピー数	qPCR (N=4)	Naica System (N=2)
	<i>M. orale</i> (平均 T _c 値)	<i>M. orale</i> (平均 copies/ μ L)
1,000	30.84	15.9
100	36.71	1.47
50	38.19	0.79
10	38.19 (detection 1)	0.37



マイコプラズマ種の網羅的検出

日本薬局方に記載されている全7種類のマイコプラズマを網羅的に検出し、全てのマイコプラズマで10コピーのサンプルを用いても、安定して検出された。また、NCのサンプルでは全く増幅が行われていないことから、マイコプラズマに特異的な増幅が行われていることがわかる。



まとめ

日本薬局方に記載されている7種類のマイコプラズマを網羅的に検出することができた。今後の再生医療におけるマイコプラズマ否定試験をさらに高感度を実施できる可能性がある。また、他の微生物種やウィルス種でもこのような網羅的な検出を行える可能性を秘めており、Naica Systemは再生医療における重要な役割を担う可能性がある。

Ref...2~10℃保存 [F]...-20℃保存 [80]...-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。
 特定 [I]...特定毒物 [I] [II]...毒物 [劇-I] [劇-II] [劇-III]...劇物 [毒]...毒薬 [劇]...劇薬 [危]...危険物 [向]...向精神薬 [特麻]...特定麻薬向精神薬原料 [カルタヘナ]...カルタヘナ法
 [審-1]...化審法 第一種特定化学物質 [審-2]...化審法 第二種特定化学物質 [化兵1]...化学兵器禁止法 第一種指定物質 [化兵2]...化学兵器禁止法 第二種指定物質
 覚せい剤取締法...「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。 [関]
 国民保護法...生物・毒薬兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。 [商標]
 上記以外の法律及び最新情報は、弊社試薬サイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com>)をご参照下さい。

- 本文に記載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フイルム 和光純薬株式会社

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL 06-6203-3741 (代表)
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所 ● 中国営業所
- 東海営業所 ● 横浜営業所
- 筑波営業所 ● 東北営業所
- 北海道営業所

フリーダイヤル 0120-052-099
 試薬URL: <https://labchem-wako.fujifilm.com>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA TEL: +1-804-714-1920 FAX: +1-804-271-7791
 ■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany TEL: +49-2131-311-0 FAX: +49-2131-311-100