

# MycoAlert®

## 迅速マイコプラズマ検出キット

### 20min Mycoplasma Testing

MycoAlert® マイコプラズマ検出キットは、細胞培養時の主な汚染種である 6 種のマイコプラズマやこれら以外の 180 種にも渡るマイコプラズマを検出するキットです。シンプルな 2 段階アッセイで 20 分以内に結果を判定します。

\*本製品は研究用途に限定されています。

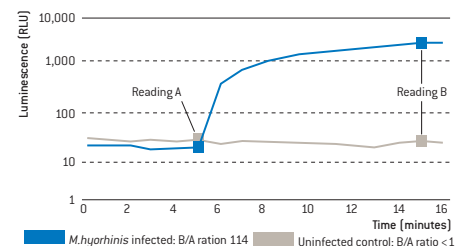
- マイコプラズマ特有の酵素活性を検出する特異性の高いアッセイ
- アッセイの信頼性を容易に確認できるマイコプラズマフリーなコントロールセット

## MycoAlert® なら、マイコプラズマ検出を20分で実施可能です。



マイコプラズマ汚染は細胞の増殖阻害や代謝機能の抑制等へ影響を及ぼすことから、実験結果に対する信頼性やその再現性、医薬品等の製造において重大な問題を引き起こします。

また、マイコプラズマは一般細菌とは異なり非常に小さいため  $10^7$  cfu/ml 超の非常に高い濃度でも顕微鏡下で可視化されず、さらに数か月間も検出されないほど、汚染の検出は非常に困難なものです。

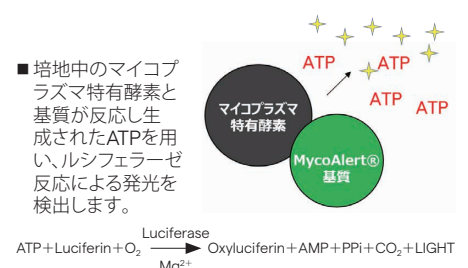


MycoAlert® キットを使ってアッセイしたマイコプラズマ非汚染細胞と汚染細胞の発光キネティクス。B/A の割合はマイコプラズマの有無を示す。

### 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



B/Aの割合が1より大きければマイコプラズマが汚染



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算出される比率により、マイコプラズマの存在の有無が示されます。

表 1 マイコプラズマ汚染検査結果

検体提供機関	検体数	陽性検体数	汚染率
大学 (11大学)	1116	284	25.4%
国立研究所 (2 機関)	58	1	1.7%
企業 (3 社)	46	5	10.6%
医薬基盤研究所	250	40	16.0%
合計	1470	330	22.4%

国立研究所、企業におけるマイコプラズマ汚染率は大学におけるマイコプラズマ汚染率よりも低い。

### MycoAlert® を使用した国内の実態調査 (2007)

- 日本組織培養学会と JCRB 細胞バンクが実施
- 論文発表：小原有弘, et al. "培養細胞研究資源のマイコプラズマ汚染調査." 組織培養研究 26.3 (2007): 159-163. より許諾を得て抜粋

# MycoAlert® Mycoplasma Detection Kit

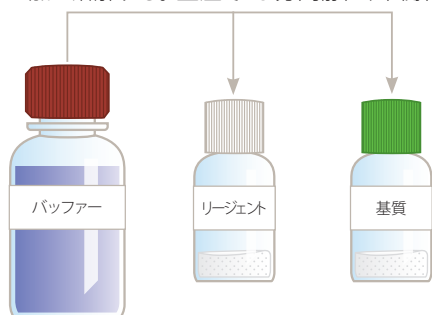
## － クイックガイド －

### 準備

- MycoAlert® マイコプラズマ検出キット ● MycoAlert® アッセイコントロールセット
- ルミノメーター ● 測定サンプル（細胞培養上清 2 ml）

### 1. 事前準備

- 1 リージェント（白）と基質（緑）にバッファー（茶）を加え溶解する。室温で15分間静置、平衡化する。



- 2 ポジティブコントロール（赤）にバッファー（茶）を加え溶解する。室温で15分間静置、平衡化する。



### 2. ルミノメーターをセットする

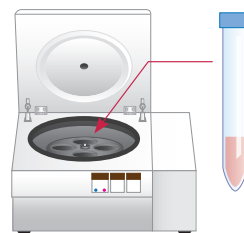
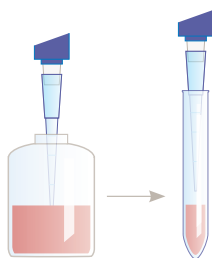
Lonza MycoAlert® 専用ルミノメーター Lucetta™ 2 の他、お手持ちのシングルリード、96 ウェルプレートタイプのルミノメーターでも対応可能です。



Lucetta™ 2 の場合は電源を入れ、バッテリー残量を確認してください

### 3. サンプルの準備

- 1 細胞上清を 2 ml 分取
- 2 5 分間、遠心する  
（\* 遠心速度 1,500 rpm (200 xg)）



型番	バッファー添加量/バイアル
LT07-118	リージェント・基質 各 600 µl
LT07-218	リージェント・基質 各 600 µl
LT07-418	リージェント・基質 各 2.5 ml
LT07-318	リージェント・基質 各 10 ml
LT07-518	ポジティブコントロール 1 ml

※平衡化後は、すぐに使用しない試薬は速やかに分注し、凍結保管してください。ポジティブコントロールを凍結保管しない場合は、氷冷した上で5時間以内に使用してください。保管温度は次ページ参照。

### 4. 保管について

#### MycoAlert® マイコプラズマ検出キット

- 1 未使用・未開封時

- 全て 2-8 °C 保管
- 凍結不可
- キットの使用期限は外装に記載。個々の構成品の使用期限はボトルに記載しています

- 2 試薬平衡化後

- リージェント・基質： -80°C 保管 推奨
- バッファー： 冷蔵（凍結不可）
- 推奨保管温度で保管の上、6 か月以内
- 実験中は室温保管可能、ただし、室温が 30°C を超える場合は 20°C の水冷保管

**MycoAlert®  
マイコプラズマ  
検出キット**



バッファー (茶)



基質 (緑)



リージェント (白)



ポジティブ  
コントロール (赤)

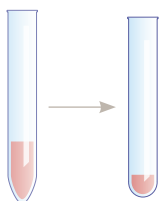


バッファー (茶)

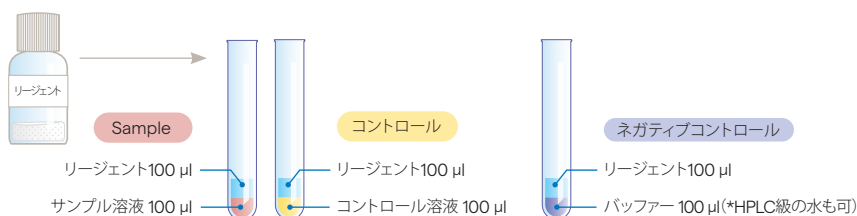
**MycoAlert®  
アッセイ  
コントロール \*別売り**

**5.測定**

- 1** 遠心したサンプル溶液を取り出し  
100 µl の上清を試験管に分注する。



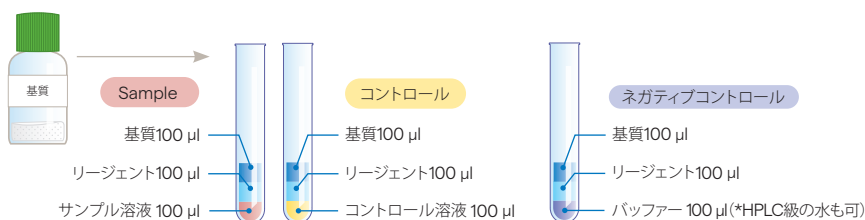
- 2** 事前準備で用意したリージェント (白) を 100 µl、サンプルに添加し、  
5分置く



- 3** 測定 (A) (リードタイム : 1 秒)



- 4** 事前準備で用意した MycoAlert® 基質 (緑) を 100 µl、  
試験管に添加し 10分置く



- 5** 測定 (B) (リードタイム : 1 秒)



- 6** 結果判定

測定値 B を測定値 A で割り、比率を求める。(B/A)

判定基準	
<0.9	陰性
0.9 - 1.2	要再テスト
>1.2	陽性

Lucetta™ 2 の場合は、測定後にRatioが自動算出され、判定が表示されます。

測定結果

B ÷ A 493 RLU/s ÷ 157 RLU/s  
RATIO = 3.1 = 陽性

**MycoAlert® アッセイコントロールセット**

- 1** 未使用・未開封時

- 2-8 °C 保管
- 凍結不可
- キットの使用期限は外装に記載。個々の構成品の使用期限はボトルに記載しています

- 2** 試薬平衡化後

- アッセイコントロール： -80°C保管 推奨
- バッファー： 冷蔵 (凍結不可) ● 推奨保管温度で保管の上、6 か月以内
- アッセイコントロールをすぐに使用しない場合、氷冷の上、5 時間以内に使用すること
- 測定時には試薬を室温に戻してください

# 20min Mycoplasma Testing

試してみませんか!? MycoAlert® サンプルキット

製品番号 : LT37-618

製品名 : MycoAlert® サンプルキット

サイズ : 5回用

価格 : 5,000円(税抜)

※ 初回利用限定のサンプルキットです。

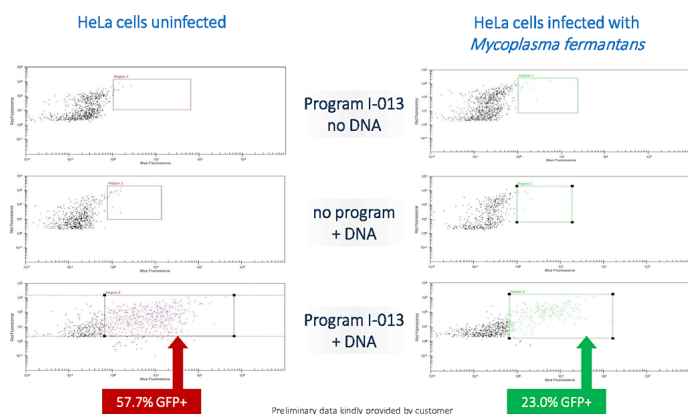
## ご用意いただくもの

- 細胞培地上清サンプル：培地上清の回収は継代作業前が最適なタイミングです
- ルミノメーター（シングルもしくはプレートタイプ）
- MycoAlert® サンプルキット（LT-37-618）



お手持ちのルミノメーターで使用可能か  
ご確認いただくためにはこちら！

## マイコプラズマ感染は遺伝子導入効率を著しく低下させます!



- HeLa 細胞に Nucleofector®2b で遺伝子導入を行った例
- マイコプラズマ感染細胞と非感染細胞の間で、細胞の生存などには違いが見られない（左上図・左中図）一方で、遺伝子導入では感染により導入効率が30%以上低下（左下図）します

## オーダー情報

カタログ番号	製品名	サイズ	価格(円・税抜)
LT07-118	MycoAlert®マイコプラズマ検出キット	10回	38,200
LT07-218		25回	71,100
LT07-418		50回	101,000
LT07-318		100回	172,000
LT07-518	MycoAlert® アッセイコントロールセット	10回	37,000

オーダー情報 未使用培地や凍結培地上清などのサンプルには、発光量が高いMycoAlert® PLUSをご利用ください。

カタログ番号	製品名	サイズ	価格(円・税抜)
LT07-701	MycoAlert® PLUS マイコプラズマ検出キット	10回	40,700
LT07-703		30回	91,500
LT07-705		50回	128,000
LT07-710		100回	191,000

※ サンプルキットは初回利用限定です。お客様につき1回までのご利用をお願い致します。

## オーダー情報 測定装置

カタログ番号	製品名	価格(円・税抜)
AAL-1002	Lucetta™ 2	1,450,000
SAAF-1003	Lucetta™ ソフトウェア	57,000

※ 本製品は研究用途に限定されています。

※ サンプルキットには、MycoAlert® 検出試薬で陽性発光反応を示すポジティブコントロール（非マイコプラズマ由来成分）5回およびMycoAlert® 検出試薬5回が含まれます。本試験またはコントロール試験いずれかを5回分実施できます。

## ロンザ株式会社

バイオサイエンス事業部

〒103-0027 東京都中央区日本橋2-1-14 日本橋加藤ビルディング9階

受注・在庫紹介 TEL: 03-6264-0620

セールス TEL: 03-6264-0660

E-mail: bioscience.sales.jp@lonza.com

テクニカルサポート TEL: 03-6264-0663

E-mail: bioscience.technicalsupport.jp@lonza.com

<http://www.lonzabio.jp/>