

## JCRB0401 : HuH-6 Clone 5 のマイコプラズマ汚染に関して

JCRB0401 : HUH-6 Clone 5 (ロット番号 : 12142012) にマイコプラズマ汚染が認められたという報告を受け、当該ロットのマイコプラズマ汚染検査を実施しました。

調査の結果、当該ロットの分譲用アンプルにおいてマイコプラズマの汚染が確認されたので報告致します。

### 結果

#### 1. 生物発光法 (MycoAlert)

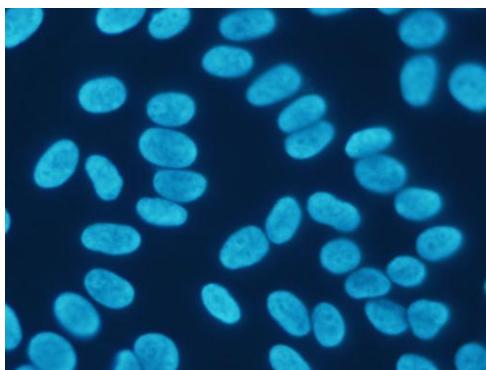
2月20日に培養開始した細胞培養上清を用いて検査を実施 (判定値 1.2 以上を陽性)

2月21日 (培養開始1日目) 判定値 1.19 (弱陽性⇒再検査)

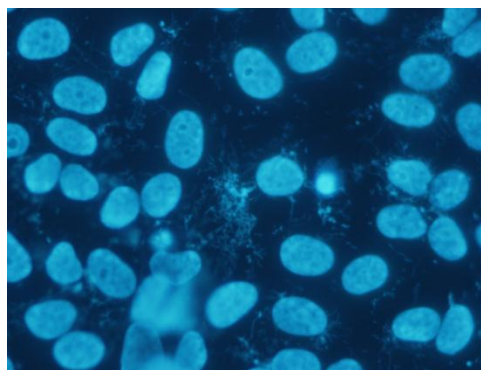
2月24日 (培養開始4日目) 判定値 5.19 (陽性)

#### 2. 指標細胞 (VERO) を用いた DNA 蛍光染色法 (日本薬局方準拠)

2月20日に培養開始した細胞培養上清を2月21日(培養開始1日目)の採取し、VEROに接種。培養5日目に細胞を固定、蛍光染色して観察



コントロール(陰性対照)



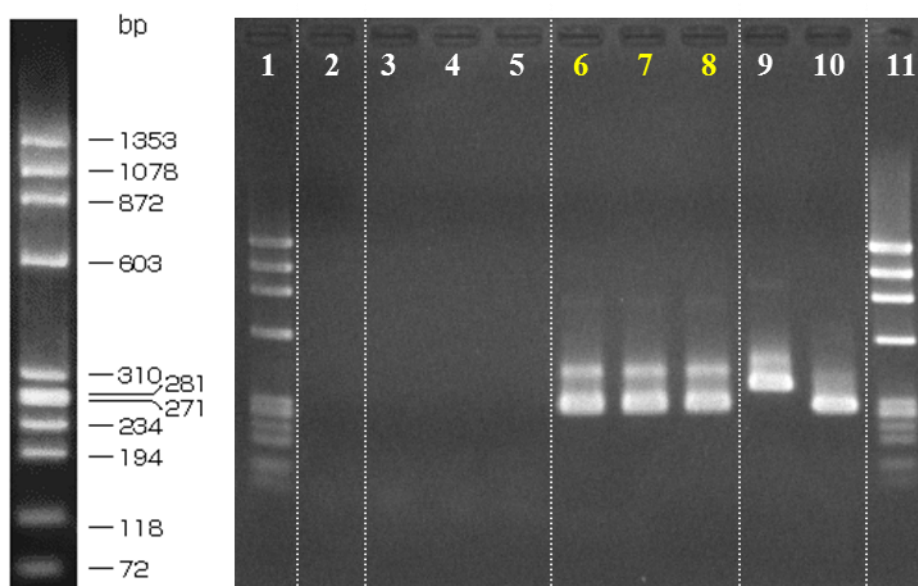
JCRB0401:HUH-6 Clone 5 培養上清(12142012)

⇒陰性対照に対してマイコプラズマ由来の DNA 蛍光染色像が認められた (陽性判定)

#### 3. Nested-PCR による検査 (日本薬局方準拠)

2月20日に培養開始した細胞培養上清を2月21日(培養開始1日目)の採取し、VEROに接種。培養5日目に培養上清を回収し、DNA抽出して2段階PCRを実施

**φX174 Hae III digest**



lane	Cell No.	Cell Name	Lot No.		result	
1	Marker	φX174/HaeIII				
2		D.D.W			-	
3	JCRB0401	HUH-6 Clone 5	12142012	Control Medium	-	on Vero
4	JCRB0401	HUH-6 Clone 5	12142012	Control Medium	-	on Vero
5	JCRB0401	HUH-6 Clone 5	12142012	Control Medium	-	on Vero
6	JCRB0401	HUH-6 Clone 5	12142012	培養上清200 μL	+	on Vero
7	JCRB0401	HUH-6 Clone 5	12142012	培養上清200 μL	+	on Vero
8	JCRB0401	HUH-6 Clone 5	12142012	培養上清200 μL	+	on Vero
9	<i>Mycoplasma fermentans</i> DNA 100 fg/μL				+	
10	<i>Mycoplasma orale</i> DNA 100 fg/μL				+	
11	Marker	φX174/HaeIII				
12		D.D.W			-	

⇒陰性対照に対してマイコプラズマ由来の DNA 断片増幅が電気泳動写真に認められた (陽性判定)

総合判定 : マイコプラズマ汚染陽性

2014年3月7日

連絡先 (独)医薬基盤研究所・培養資源研究室 (JCRB 細胞バンク)

E-mail : jcrb-cell@nibio.go.jp 電話 : 072-641-9851