

1. はじめに

動物実験の再現性を担保するためには、適切な微生物学的統御が必要である。そのためには、動物だけでなく動物実験に使用する培養細胞及び細胞塊等の微生物学的統御も適切に行う必要がある。そこで、疾患モデル教育研究サポートセンター(以下疾患モデルセンターという)内の微生物学的環境の維持のために、本「培養細胞取扱いに関する指針」を設定する。

2. 疾患モデルセンターに持ち込む培養細胞に関する微生物モニタリングを下記のように取り決める

1) 株化細胞の場合

- (1) Mycoplasma spp. (M. pulmonis 含む)に非感染であること
- (2) 検査費用は受益者負担とする*
- (3) 疾患モデルセンターに培養細胞を持ち込む前に、「培養細胞のモニタリング結果届出書」(様式 16)を提出すること

*:Cancer Research などの研究雑誌は、Mycoplasma 感染していない培養細胞を実験に使用することを求めていることから^{注1)}、その結果を提示すれば良い

2) 動物で継代された細胞塊等の場合

- (1) マウスで継代された細胞塊等の場合、ICLAS の M-PSB の項目 (Mycoplasma pulmonis, Clostridium piliforme (Tyzzer 菌), Sendai virus, Ectromelia virus, LCMS virus, Mouse hepatitis virus) が非感染であること、ラットで継代された細胞塊等の場合は ICLAS の R-PSB の項目 (Mycoplasma pulmonis, Clostridium piliforme (Tyzzer 菌), Sendai virus, Hantavirus, Sialodacryoadenitis virus) が非感染であること
- (2) 検査費用は受益者負担とする
- (3) 疾患モデルセンターに培養細胞を持ち込む前に、「培養細胞のモニタリング結果届出書」(様式 16)を提出すること
- (4) マウス、ラット以外で継代された細胞塊等を使用する場合、別途センター長と相談すること

3. 微生物モニタリング陽性結果の対処方法を下記のように定める

- 1) 疾患モデルセンターへの培養細胞の持ち込みを禁止する
- 2) 細胞を再購入、あるいは冷凍保管していた細胞を再培養する場合、改めて微生物モニタリングを行い、「培養細胞のモニタリング結果届出書」(様式 16)を提出すること
- 3) 抗生物質等で除染処理した場合、再度微生物モニタリングを行い、陰性になってから「培養細胞のモニタリング結果届出書」(様式 16)と除染履歴を提出し、センター長と相談すること

注 1) 例; American association for cancer research (AACR) の Cancer Research の投稿規定より抜粋

Cell Lines

AACR strongly encourages the authentication of cell lines used in the research reported in its journals. Please also include the RRID (see Data Analysis and Reporting above) for each cell line used. If cell lines were used, a statement addressing the following points must be included in the Materials and Methods section of the manuscript:

- From where and when the cells were obtained. 細胞の由来と得た時期
- A description of the cell authentication and Mycoplasma testing method(s) and regimen used by the laboratory and, minimally, the latest date the cells were tested. If no testing was done, this should be stated. マイコプラズマ非感染の自己補償
- The general length of time or number of passages between collection or thawing and use in the described experiments. This can be expressed as overall ranges. 継代状況

If cells were obtained directly from a cell bank that performs cell line characterizations and passaged in the user's laboratory for fewer than 6 months after receipt or resuscitation, re-authentication is not required. In these cases, the author should include the method of characterization used by the cell bank. Obtaining cell lines from colleagues or other institutions without authentication is strongly discouraged. Resources for authors regarding the cell line policy are available at our Author Services Center.

参考資料

培養細胞の微生物モニタリング方法

例; TaKaRa PCR Mycoplasma Detection Set 価格 60,000 円(100 回分) (2021 年 12 月現在)

	F1 and R1 (bp)	F2 and R2 (bp)
<i>M. hyopneumoniae</i>	681	237
<i>M. neurolyticum</i>	501	196
<i>M. fermentans</i>	491	195
<i>M. pulmonis</i>	477	189
<i>M. hyorhinis</i>	448	211
<i>M. orale</i>	423	179
<i>M. capricolum</i>	415	179
<i>M. arthritidis</i>	408	157
<i>M. salivarium</i>	403	151
<i>M. hominis</i>	370, 369	147, 148
<i>M. arginini</i>	369	145
<i>U. urealyticum</i>	482, 481	154

※12 種のマイコプラズマの DNA をそれぞれ鋳型とし、2 種のプライマー対を用いて増幅を行った場合の増幅断片の大きさを示している。

例; ICLAS の細胞・腫瘍株の微生物検査項目へ外注

PSB (PCR Sets for Biological Materials) 価格 20,000 円 (2021 年 12 月現在)

		M-PSB (マウス)	R-PSB (ラット)
PCR	<i>Clostridium piliforme</i> (Tyzzer)	■	■
	<i>Mycoplasma pulmonis</i>	■	■
	Sendai virus	■	■
	Ectromelia virus	■	
	LCM virus	■	
	Mouse hepatitis virus	■	
	Hantavirus		■
	Sialodacryoadenitis virus (SDAV)		■

※アカデミア価格はすべて 20%引きとなります。

※記載されている検査項目は全て、単項目でのご依頼が可能です
(単項目検査の価格は原則 4,000 円/ 項目)。