

代理店様勉強会 2026年 5月 マイコプラズマ否定試験（C法）について

島津ダイアグノスティクス株式会社
法人営業部 CC営業グループ

本日のトピックス

1. マイコプラズマとは
2. 日本薬局方 参考情報
3. A法（培養法）
4. B法（指標細胞を用いたDNA染色法）
5. C法（核酸増幅法）
6. キットバリデーション
7. 施設バリデーション
 - ・ 関連製品紹介

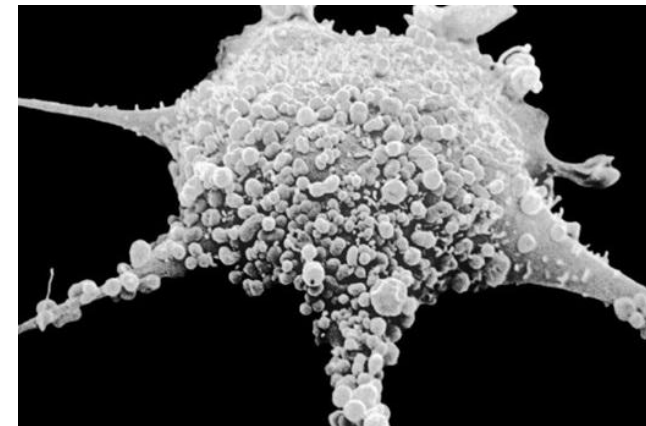
マイコプラズマと細胞培養

＜特徴＞

- 動植物界に広く分布し、種に特異的な感染を示す
- 培養作業従事者や培養に用いられる血清などを介して種を超えて感染する
- 抗生物質に耐性を持つものが多い
- 小ささゆえ、滅菌ろ過フィルター（0.22 μ m）を通過する
- マイコプラズマ汚染が生じてても細胞障害性を示さない

⇒ **汚染に気づくことが難しい**

線維芽細胞に感染したマイコプラズマ



EXCLI J. 2014; 13: 300-322

実験室で維持されている培養細胞でマイコプラズマの汚染が**高頻度に見られる**との報告がある

⇒細胞の増殖能、形態、代謝、染色体異常・サイトカインの誘導、免疫反応などに影響

⇒汚染細胞を用いて医薬品が製造された場合、**重大な事態を招く可能性**がある

- ・ 医薬品製造に用いる細胞基材
- ・ 細胞・組織加工医薬品

適切なマイコプラズマ否定試験の実施が必要

日本薬局方 参考情報記載 マイコプラズマ否定試験

バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験〈G3-14-170〉

本文書は、バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に使用する細胞基材で細胞バンクを基にするものに対し、現段階で実施すべきと考えられるマイコプラズマ否定試験について述べたものである。

① 試験方法としては、A. 培養法、B. 指標細胞を用いたDNA染色法、C. 核酸増幅法(Nucleic acid amplification test : NAT)による検出法が挙げられる。

② 本マイコプラズマ否定試験の対象は、マスター・セル・バンク(MCB)、ワーキング・セル・バンク(WCB)及び医薬品製造工程中の培養細胞である。これらに対して、A法とB法による試験を実施する。ただし、適切なバリデーションを実施することにより、C法をA法やB法の代替法として用いることができる。

① マイコプラズマ否定試験方法

A法：培養法

B法：指標細胞を用いたDNA染色法

C法：核酸増幅法（NAT）

② マイコプラズマ否定試験対象

マスター・セル・バンク（MCB）

ワーキング・セル・バンク（WCB）

医薬品製造工程中の培養細胞

③ マイコプラズマ否定試験実施

A法とB法による試験を実施する

適切なバリデーションを実施することにより、C法をA法やB法の代替法として用いることができる

マイコプラズマ否定試験 A法（培養法）



原理：人工培地を用いて**マイコプラズマを培養・増殖させて検出**する直接検出方法

特徴

メリット	デメリット
陽性判定は生きたマイコプラズマの存在を示す最も確実な証明になる	<u>判定まで28日間以上を要する</u>
理論的には1 CFU存在すれば検出可能	培養法では検出が困難な菌種も存在する

生物製剤基準：ブドウ糖添加培地、アルギニン添加培地を使用する（ブドウ糖分解マイコプラズマ種、アルギニン分解マイコプラズマ種の増殖を捉えるため）
液体培地と寒天培地の両方を使用して試験します

マイコプラズマ否定試験 B法（指標細胞を用いたDNA染色法）

原理：指標細胞の存在下で**マイコプラズマを培養して核酸を染色して検出**する

特徴

メリット	デメリット
培養細胞を汚染するマイコプラズマは細胞依存性が強く、培養法で検出できない種類も検出できる	細胞由来のDNA断片や、他の細菌のDNAも染色されるため、 結果の判定に熟練を要する
	培養法と比較して、検出感度は低い

マイコプラズマ否定試験 C法（核酸増幅法）

原理：検体から抽出した核酸を鋳型とし、**マイコプラズマ特異的な塩基配列をもつ核酸を増幅して検出**する

特徴

メリット	デメリット
短時間 で結果が得られる（培養不要）	検出の感度や特異性は検出するプライマーに依存する
検体量が少なくても試験が可能	目的とする塩基配列の存在を示すだけで、生きているマイコプラズマを検出しているとは限らない
培養できないマイコプラズマでも検出可能	



関連製品のご紹介

マイコプラズマ否定試験用液体培地 I マイコプラズマ否定試験用液体培地 II

寒天培地についてはお問い合わせください

- 生物学的製剤基準を参照した国立感染症研究所処方
- 生物学的製剤基準・日本薬局方の培地性能試験に適合
- 100mLのボトル分注品を滅菌袋で2次包装（日本薬局方の試験に直接使用）

製品仕様

製品名	マイコプラズマ否定試験用 液体培地 I	マイコプラズマ否定試験用 液体培地 II
製品コード	69207	69208
容量	100 mL	100 mL
包装	125mL PETGボトルに充填 滅菌袋で2次包装	125mL PETGボトルに充填 滅菌袋で2次包装
形態	凍結	凍結
保管温度	-20℃以下	-20℃以下
使用期限	12ヶ月	12ヶ月

マイコプラズマ
否定試験用液体培地 I



マイコプラズマ
否定試験用液体培地 II



[マイコプラズマ液体培地製品情報](#)

関連製品のご紹介【Myco Finder（マイコファインダー）】

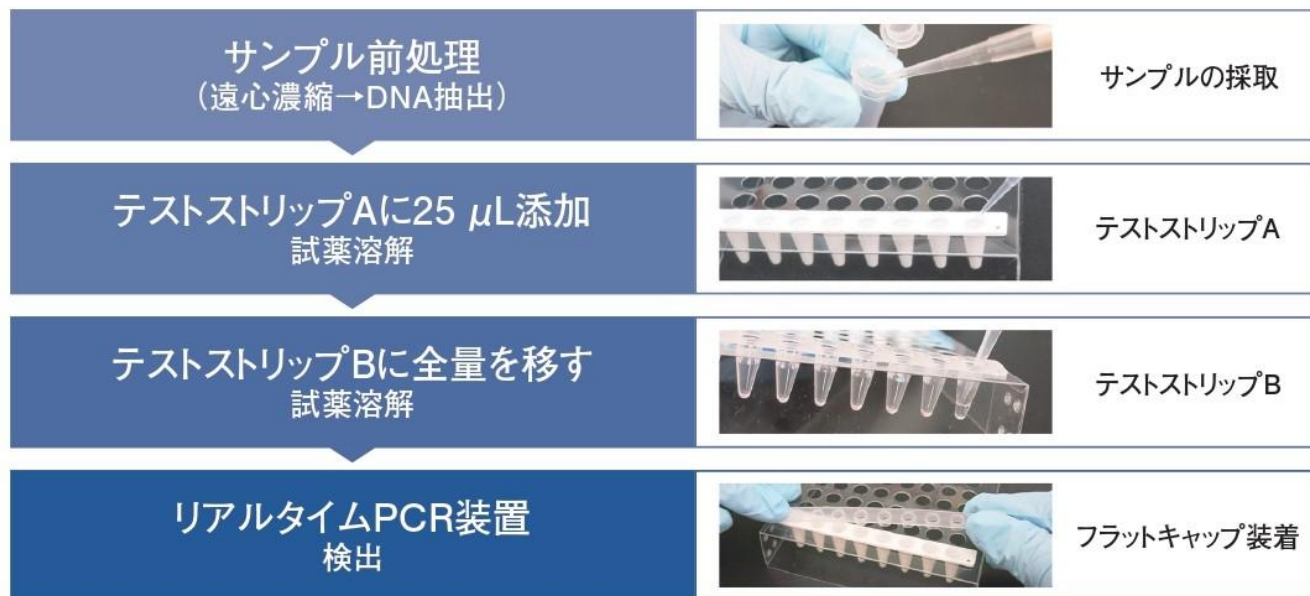
第18改正日本薬局方に対応！

マイコプラズマ否定試験試薬

Myco Finder（マイコファインダー）

操作は4ステップで完了！

検出には白色と透明のストリップを選択可能！



- ✓ 試薬調製が不要
 - ✓ 短時間で検出が可能
 - ✓ 冷所保管が可能（2～8℃）
- ※細胞不含検体でも対応可能です

[Myco Finder製品情報](#)

バリデーションの内容

日局掲載内容に則ったキットバリデーションデータのご用意がございます。

- 特異性試験
- 感度試験
- 頑健性
- 同等性試験（A法(培養法)との同等性）

C-3 マイコプラズマ検出のためのNATのバリデーション法

NATによる目的核酸の検出法としては、定性的試験と定量的試験がある。細胞基材へのマイコプラズマ汚染の検出には、定性的試験として限度試験が考慮される。ここにマイコプラズマ汚染を検出するための定性的NATの評価方法を示す。この評価方法は、適切なカットオフ値を設定した定量的NATにも適用できる。

1) 評価項目

特異性、検出感度、頑健性の三つのパラメーターについて評価する必要がある。

※簡易バリデーションはHPからDL可能。フルバリデーションはお客様との秘密保持契約締結後にご提供

なぜバリデーションが必要なのか？

ユーザーは自施設でフルバリデーションを実施しなければならないのか？

⇒改正案には「市販キットをNAT試験に使用する場合、製造業者のフルバリデーションデータを使用者の代替として用いることが可能」との記述。

メーカーバリデーションのデータがあればユーザーはフルバリデーション不要

しかし！

検体の細胞種、抽出方法、検出機器等の違いが感度・再現性に影響する可能性がある
よって、ユーザー施設での性能確認試験は必要。

ユーザーは自施設でメーカーが示したバリデーション通りの結果が得られることを確認する必要がある。

施設バリデーションについて

JP19の内容から考えられる施設バリデーションについて：

- Myco Finderのバリデーションデータ結果との比較を行う必要がある
- 施設バリデーションでは、**検出感度、再現性を確認**する必要がある
- 採用する手法や当該機器の妥当性の確認は**感度試験**で代用可能



具体的な数値や誤差範囲は示されておらず、
使用目的にかなっているかどうかはユーザー判断

関連製品のご紹介【初期導入サポートサービス】

安全性試験試薬の導入をお考えの方におすすめのプランです

こんなお悩みはございませんか？

● 導入評価に自信が無い

- ✓ NATの経験がない
- ✓ リアルタイムPCR装置がない
- ✓ 試験環境が整っていない
- ✓ 生菌が取り扱えない

● プロトコルを改善したい

- ✓ 生菌を使用した評価
- ✓ DNA抽出の改善評価
- ✓ 培地との比較評価
- ✓ 集菌試薬を用いた評価

● 施設バリデーションってどうしたらいいんだろう…

お悩み・お困りごとの解決の
お手伝いをさせていただきます！

