

## ATCC<sup>®</sup> STR 細胞認証テストキット/サービス 手順書

### 【注意事項】

サンプルを準備する前に、必ずお読みください。

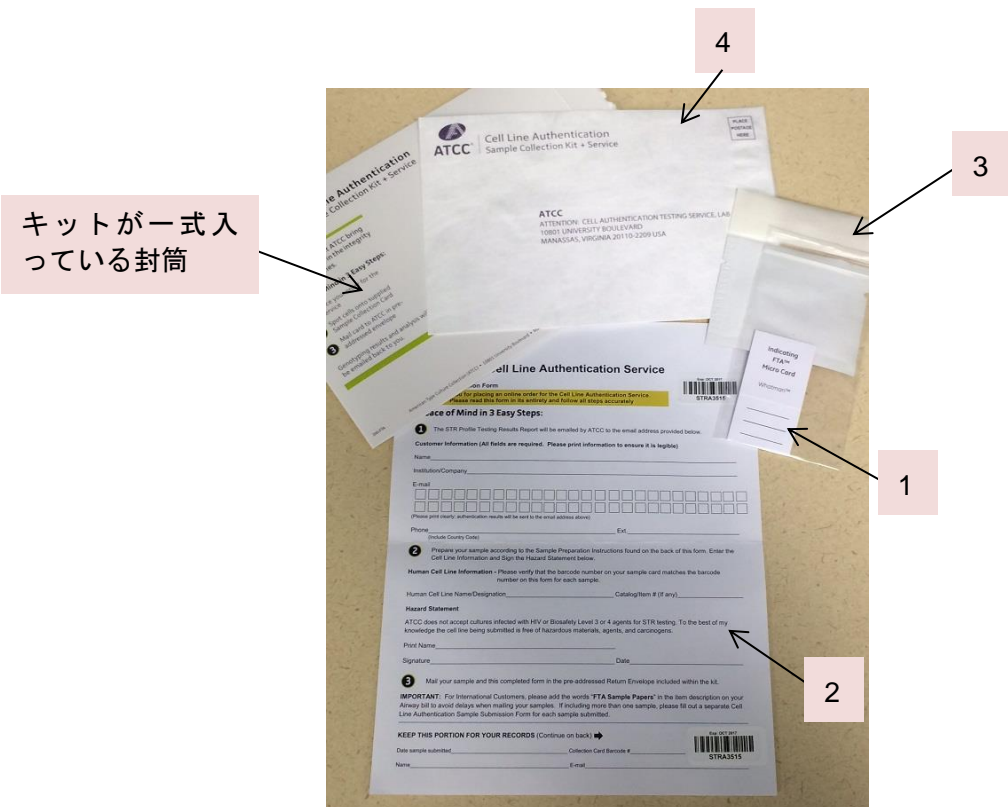
- ・本商品は研究用途のみにご使用ください。医療診断用途等には使用しないでください。
- ・テストキット到着後、必ず内容物を確認してください。内容物詳細は次ページをご覧ください。
- ・ATCC<sup>®</sup>へのサンプル発送につきましてはお客様のご責任においてお願い申し上げます。Sample Submission Form(申し込み用紙)に未記入・不備がある場合、データが届かない、もしくは正確な解析結果とならない場合がありますので十分ご注意ください。
- ・サンプルの ATCC<sup>®</sup>への送料につきましては、お客様のご負担となります。ご購入いただく ATCC<sup>®</sup> STR 細胞認証テストキット代には当該送料は含まれておりません。発送途上での紛失等のトラブル防止のため、追跡サービス付帯の発送方法をお勧め致します。
- ・ATCC<sup>®</sup>がサンプルを受け取ってから、同社の約 5 営業日後に Sample Submission Form に記載されたメールアドレスへ解析報告書が送付されます。ただし、ご発注のタイミングや ATCC 側での本サービスの受託状況によりましては報告書の納期が遅れる場合があります。メールの設定によっては、ATCC からのメールが迷惑メールボックスに振り分けられる可能性もありますので、迷惑メールボックスもご確認ください。
- ・サンプルの ATCC<sup>®</sup>への返送期限はございませんが、お届けしたキット自体の保証はお客様受領後 30 日間となっておりますので、その期間内のご使用をお勧め致します。
- ・波形データは Amelogenin を含む 18 ローカス分提供されますが、解析結果については、ATCC<sup>®</sup>データベースと 9 ローカスを照合した結果が提供されます。
- ・解析結果についてのお問い合わせは ATCC<sup>®</sup>まで(TEL: +1-703-365-2700 Email: [STRTechSupport@atcc.org](mailto:STRTechSupport@atcc.org)) 直接お問い合わせください。なお、弊社ではデータ解釈、解析結果等に関するお問い合わせにはご対応致しかねますことを予めご了承ください。お電話による対応は営業時間内(現地時間)となります。

【テストキット 内容物】

テストキット到着後、下記 4 点が同封されているか確認してください。1 点でも欠けている場合は、[atcc@summitpharma.co.jp](mailto:atcc@summitpharma.co.jp)までご連絡ください。

1. Sample Collection Card (FTA paper)
2. Sample Submission Form
3. Multi Barrier Pouch
4. Pre-addressed Return Envelope(この返信用封筒での送付は行わないようお願いします。発送については、下記、発送のご案内をご参照ください。)

**1., 2., 4. に記載されているバーコード No. が一致していることを確認してください。**



【STR 解析キット 発送のご案内】

- ・本商品を ATCC®へ返送する際には、追跡可能な貨物として発送をお願いします。
- ・発送の際には、品名欄に必ず「FTA sample paper」と記載ください。

以下、いくつか国際輸送サービスをご案内いたします。

日本郵政 EMS(国際スピード郵便): <https://www.post.japanpost.jp/int/service/index.html>

DHL: <http://www.dhl.co.jp/ja/express/shipping.html>

UPS: <https://www.ups.com/content/jp/ja/index.jsx?WT.svl=BrndMrk>

Fedex: <http://www.fedex.com/jp/>

※上記は例となりますので、お客様で日頃ご利用されているしかるべき国際輸送サービスがございましたら、そのサービスをご利用ください。

**【Sample Submission Form 記入例】**

必ず全ての項目を記入してください。未記入、不備がある場合、データが届かない、もしくは正確な解析結果とならない場合があります。

① お名前、ご所属、メールアドレス、電話番号（内線含）をご記入ください。  
 【ご注意】  
 \*全て英語（ブロック体）で記入してください。  
 \*電話番号は国番号(81)も加えてください。

② ・細胞株名及び型番を記入してください。  
 ・ATCC®では HIV に感染した細胞株及び BSL3/BSL4 に該当する細胞株について STR 解析を行いません。その他、提供するサンプルに有害な物質、薬剤及び発がん物質が含まれていないことを確認し、署名してください。

③ 発送のご案内(2 ページ)をご参照ください。

④ 解析結果が届くまで、大切に保管してください。

⑤ サンプル送付前にチェックリストをご活用ください。

- Before handling the Sample Collection Card, thoroughly clean the work surface. With gloved hands, carefully open the Sample Collection Kit and remove the Sample Collection Card. **IMPORTANT:** Wear gloves when handling the Sample Collection Cards to avoid cross-contamination with your own DNA.
- Clearly label the Sample Collection Card with the cell line name/designation. If sending multiple cell lines use a separate card for each cell line and make sure the information on the card matches the information on the Sample Submission Form.
- Spot 40µl of the cell suspension prepared in step 2 above at  $1 \times 10^6$  cells/ml in the center of the circle on the inside of the Sample Collection Card.
- Allow the Sample Collection Card to air dry in a laminar flow hood at room temperature.
- When the Sample Collection Card is dry, place it and one desiccant pack (provided with the Kit) in the Multibarrier Pouch with the barcode visible on the see-through side of the pouch. **\*\*To avoid cross-contamination, use one Multibarrier Pouch per sample being submitted.**
- Be sure to completely close the Multibarrier Pouch to preserve and protect the sample.
- Repeat this process for each sample being submitted for testing, manipulating only one cell line at a time to avoid cross-contamination.
- When the cell lines have been spotted and sealed in separate Multibarrier Pouches, place them and the completed corresponding Sample Submission Forms into the pre-addressed Return Envelope(s). If space allows, you may place multiple Multibarrier Pouches into one Return Envelope (be sure to include the Sample Submission Form(s)).
- Affix appropriate postage and place sealed, pre-addressed Return Envelope(s) in the mail. If using an overnight service, please send to the address listed on the pre-addressed Return Envelope. **IMPORTANT:** For International Customers, please add the words "FTA Sample Papers" to the item description on your Air bill labels to avoid delays when mailing your samples.

- Checklist**  
 Before mailing your sample, did you:
- Complete the Submission Form
  - Spot the cells in the Sample Card and place the card in the Ultra-barrier Pouch
  - Include the Submission Form and Ultra-barrier Pouch containing FTA Sample Card in the pre-addressed Return Envelope
  - If mailing more than one sample, please be sure to match the FTA Card barcode number with the Submission Form barcode number
  - Mail the pre-addressed Return Envelope
  - Add words "FTA Sample Papers" to item description on Airway bill labels
- (Continue on back) →

### 【サンプル調整手順】

ご注意: サンプルは細胞数が  $1 \times 10^6$  細胞/ml となるよう調整し、FTA 紙にスポットしてください。スポット前に細胞数測定を行ってください。細胞数が  $0.8 \times 10^6$  細胞/ml 以下、もしくは  $1.7 \times 10^6$  細胞/ml 以上の場合、正確な結果が出ない可能性があります。

1. 解析対象となる細胞株を最適な細胞数になるよう調整してください。

**接着細胞の場合:** トリプシン処理を行い、125xg で遠心してください。遠心後、上清を捨て、ペレットを少量の PBS で懸濁してください。細胞数測定後、 $1 \times 10^6$  細胞/ml になるよう PBS を用いて細胞数を調整してください。細胞を希釈しすぎた場合、再度遠心し、 $1 \times 10^6$  細胞/ml になるよう PBS で懸濁してください。

**浮遊細胞の場合:** 細胞を回収し、細胞数を測定してください。細胞数が  $1 \times 10^6$  細胞/ml 以上であった場合、 $1 \times 10^6$  細胞/ml になるよう PBS で希釈してください。細胞数が  $1 \times 10^6$  細胞/ml 以下の場合、細胞を遠心し、 $1 \times 10^6$  細胞/ml になるよう PBS で懸濁してください。

2. コンタミネーションを避けるため、サンプル調整前に、作業スペースをエタノール等で清潔にしてください。グローブを着けた後、慎重に Sample Collection Kit を開け、カードを取り出してください。

**重要！** お客様ご自身の DNA とのクロスコンタミネーションを避けるため、カードを取り扱う際には必ずグローブを着用してください。

3. カードに細胞株名を記載してください。複数の細胞株を送付する場合、別々のカードを使用してください。フォームとカードに記載した内容及びバーコード No. が一致するか確認してください。

4. 手順 1 で調整した細胞懸濁液 40 $\mu$ L ( $1 \times 10^6$  細胞/ml 相当) をカード内側のサークルの中央にスポットしてください。

5. 細胞スポット済みのカードをクリーンベンチ(室温)で風乾させてください。

6. カード風乾後、Multi Barrier Pouch(以下、パウチ)にカードとキット付属の乾燥パックを入れてください。カードはパウチの透明な面からバーコード No. が見えるよう封入してください。

\*クロスコンタミネーションを避けるため、1 サンプルにつき 1 つのパウチをご使用ください。

7. サンプルの保護、保存のため、パウチは完全に閉めてください。

8. サンプルが複数ある場合には、手順 1-7 を繰り返してください。クロスコンタミネーションを避けるため、一度の作業で 1 サンプルずつ取り扱うようにしてください。


9. パウチに細胞スポット済みカードを封入した後、Pre-address Return Envelope(以下、返信用封筒)にパウチ(カード封入済み)及び必要事項を記入したフォームを同封してください。返信用封筒にスペースがあれば複数のパウチを 1 つの返信用封筒に同封することができますが、その際には必ずパウチと同じ数のフォームを同封してください。

ご注意: テストキット内の返信用封筒のまま発送せず、海外送付が可能な梱包材に入れてください。ATCC へ返送する際には、必ず追跡可能な国際輸送サービスをご利用いただき発送をお願い致します。

10. 発送については、2 ページをご参照のうえ、お客様のご責任においてお願い申し上げます。

【解析結果の見方】

解析結果の解釈について、ご質問がある場合には、ATCC®(STRTechSupport@atcc.org)へお問い合わせください。



**Cell Line Authentication Service**  
STR Profile Report

Sample Submitted By: [Redacted]

Email Address: [Redacted]

ATCC Sales Order: SOJ25378  
FTA Barcode: STRA3052

Cell Line Designation: A549 GAC23 C127

Date Sample Received: July 5, 2016  
Report Date: July 7, 2016

**Methodology:** Seventeen short tandem repeat (STR) loci plus the gender determining locus, Amelogenin, were amplified using the commercially available PowerPlex® 18D Kit from Promega. The cell line sample was processed using the ABI Prism® 3500Xi Genetic Analyzer. Data were analyzed using GeneMapper® ID-X v1.2 software (Applied Biosystems). Appropriate positive and negative controls were run and confirmed for each sample submitted.

**Data Interpretation** Cell lines were authenticated using Short Tandem Repeat (STR) analysis as described in 2012 in ANSI Standard (ASN-0002) *Authentication of Human Cell Lines: Standardization of STR Profiling* by the ATCC Standards Development Organization (SDO) and in Capes-Davis et al., *Match criteria for human cell line authentication: Where do we draw the line?* Int. J. Cancer. 2012 Nov 8. doi: 10.1002/ijc.27931

ATCC performs STR Profiling following ISO 9001:2008 and ISO/IEC 17025:2005 quality standards. There are no warranties with respect to the services or results supplied, express or implied, including, without limitation, any implied warranty of merchantability or fitness for a particular purpose. Neither ATCC nor Promega is liable for any damages or injuries resulting from receipt and/or improper, inappropriate, negligent or other wrongful use of the test results supplied, and/or from misidentification, misrepresentation, or lack of accuracy of those results. Your exclusive remedy against ATCC, Promega and those supplying materials used in the services for any losses or damage of any kind whatsoever, whether in contract, tort, or otherwise, shall be, at Promega's option, refund of the fee paid for such service or repeat of the service.


The ATCC trademark and trade name, any and all ATCC catalog numbers are trademarks of the American Type Culture Collection. PowerPlex is a registered trademark of Promega Corporation. Applied Biosystems, ABI Prism and GeneMapper are registered trademarks of Life Technologies Corporation.

Technical questions? Ordering questions?  
 ATCC Technical Support 800-438-6597 or 703-385-2700  
 (800) 638-6597 / +1 703-385-2700 Fax 703-385-2750  
 STRTechSupport@atcc.org Email: STRtesting@atcc.org

お客様ご提出の Sample Submission Form に記載されていた細胞株名

解析方法の説明

データ解釈の根拠となる参考文献の記載



**Cell Line Authentication Service**  
STR Profile Report

FTA Barcode: STRA3052  
ATCC Sales Order: SOJ25378

**解析結果**

**データベースプロフィール**

Test Results for Submitted Sample			ATCC Reference Database Profile		
Loci	Query Profile: A549 GAC23 C127		Database Profile: A549		
D3S1358	16				
TH01	8	9.3	8	9.3	
D21S11	29				
D18S51	14	17			
Penta_E	7	11			
D5S818	11		11		
D13S317	11		11		
D7S820	8	11	8	11	
D16S539	11	12	11	12	
CSF1PO	10	12	10	12	
Penta_D	9				
Amelogenin	X	Y	X	Y	
vWA	14		14		
D8S1179	13	14			
TPOX	8	11	8	11	
FGA	23				
D19S433	13				
D2S1338	24				

Number of shared alleles between query sample and database profile: 15  
 Total number of alleles in the database profile: 15  
 Percent match between the submitted sample and the database profile: 100  
*The allele match algorithm compares the 8 core loci plus amelogenin only, even though alleles from all loci will be reported when available.*

**NOTE:** Loci highlighted in grey (8 core STR loci plus Amelogenin) can be made public to verify cell identity. In order to protect the identity of the donor, please do not publish the allele calls from all the STR loci tested. Electropherograms showing raw data are attached.

**Explanation of Test Results**  
 Cell lines with ≥ 80% match are considered to be related; i.e., derived from a common ancestry. Cell lines with between a 55% to 80% match require further profiling for authentication of relatedness.


The submitted sample profile is human, but not a match for any profile in the ATCC STR database  
 The submitted profile is an exact match for the following ATCC human cell line(s) in the ATCC STR database (8 core loci plus Amelogenin): CCL-185 (A549)  
 The submitted profile is similar to the following ATCC human cell line(s):

**Additional Comments:**  
 Submitted sample, STRA3052 (A549 GAC23 C127), is an exact match to ATCC cell line CCL-185 (A549).

**追加コメント**

e-Signature, Technician: Isander 07/07/16

e-Signature, Reviewer: kkindig 07/07/16



解析結果の説明

追加コメント



**Cell Line Authentication Service**  
STR Profile Report

FTA Barcode: STRA3052  
ATCC Sales Order: SOJ25378

Addendum: Comparative Output from the ATCC STR Profile Database

% Match	ATCC® Cell. No.	Designation	D5S818	D13S317	D7S820	D16S539	vWA	TH01	AMEL	TPOX	CSF1PO
100	CC-165	A549	11	11	8,11	11,12	14	8,9,3	X,Y	8,11	10,12
100	STRA3052	A549 GAC23 C127	11	11	8,11	11,12	14	8,9,3	X,Y	8,11	10,12

**専門用語の説明**

**Definitions of terms used in this report:**

**Peak Area Difference (PAD):**  
Refers to a heterozygous peak imbalance. Two alleles at a single locus should amplify in a similar manner, and therefore produce peaks of similar height and area. Peaks which are above threshold (50 fls) but are not of similar area, within 50% of each other, are referred to as a PAD. Due to their nature cell lines do not amplify in the same manner as a sample taken from a fresh buccal swab. PAD is far more common in cell line samples.

**Stutter:**  
A stutter peak is a small peak which occurs immediately before the true peak. It is defined as being a single repeat unit smaller than the true peak. The stutter peak should be less than 15% of the true peak. The stutter is caused by the polymerase.

**+4 Peak:**  
A +4 is similar to a stutter but occurs immediately after the true peak. A stutter peak should be less than 5% for a homozygous and 10% for a heterozygous.

**Below Threshold Peak(s):**  
Cell lines can produce unusual profiles and occasionally a peak will amplify poorly and be below threshold. Where we find a below threshold peak which we believe is valid we indicate it as a below threshold peak. Our cell line analysis criteria, Homozygous and Heterozygous peaks must be equal to or above the set height threshold for it to be considered a true peak.

**Ladder/ Off Ladder Peak(s):**  
The allelic ladder consists of most or all known alleles in the population and allows for precise assignment of alleles. Those which do not align are termed 'off ladder'.

**Artifact:**  
A non-allelic product of the amplification process, an anomaly of the detection process, or a by-product of primer synthesis

**Pull-up:**  
A term used to describe when signal from one dye color channel produces artificial peaks in another, usually adjacent, color.

**Spike:**  
An extraneous peak resulting from dust, dried polymer, an air bubble, or an electrical surge.

**Dye blob:**  
Free dye not coupled to primer that can be injected into the capillary. (A known and documented dye blob is often found at the D3S1358 locus.)

ATCC®データベースと解析結果を照合し、データベース内のどの細胞株に近いか%（パーセンテージ）で表しています。

Amelogenin を含む 18 ローカスの波形データ（エレクトロフェログラム）です。

