

クレベルで統合し、同一タンパク由来のペプチドをグループ化して取り扱うことができ、これによって、タンパクレベルでの定量比較が可能となった。その結果、合計 1017 個のタンパク質が同定された。それぞれのタンパク質に対して、4 継代と 16 継代間での定量比較を行い、帰属するペプチドの発現比の平均値から、タンパクとしての発現比を得ることができた。4 継代に比べ 16 継代の細胞で発現が 3 倍以上上昇もしくは低下したタンパク質のリストを表 9 と 10 に示した。

どちらも、トップにランクされたのはミトコンドリアのタンパク質であった。Eukaryotic transcription initiation factor 3 は両方のリストに含まれたが、サブユニット C が増加、E が減少と逆の動きを示した。その他、発現上昇したタンパクとしては、転写に関係するタンパク (HXA10, UBF1)、膜タンパク (FADS3, RAB36, TM87A) が含まれた。一方、発現低下をするタンパクとしては、細胞骨格タンパク (TBB2A, TBB3)、HLA 関連遺伝子、細胞増殖関連遺伝子 (PSME3, PCNA)、DNA 損傷でリン酸化を受けるタンパク質 (HNRPF, EIF3E, HSP74) などが含まれた。

D. 考察

各種体性幹細胞を含む細胞治療用の細胞を、*in vitro* において培養する場合には、必ずいくつかの危険性が伴う。特に、染色体の不安定性が懸念されており、がん化につながる初期変化として、その検出は重要な課題となる。我々はヒト骨髄由来間葉系幹

細胞 hMSC を用い、長期培養による遺伝的安定性を SNP チップをはじめとするアレイ CGH の手法を用いて検討を行った。その結果、頻度は低かったが、解析した 1 例においてゲノムのコピー数の変化が認められ、マルチカラー-FISH 法による染色体解析において、7 番および 17 番染色体の転座および増幅を伴う異常を検出した。染色体特異的セントロメア FISH 法を用いて、比較的初期に起きた異常が細胞集団の中へ広がっていくことが確認されたが、いつこの異常が起きたかをはっきりさせるため、同一ロットを他の研究者から入手し、長期培養により同一の異常が出現するかを確認した。その結果、予想されたとおり、全く同じと考えられる異常が、大部分の細胞に観察され、この異常が細胞購入時に既に存在したことが証明できた。これまでに報告されたこのロットの増殖曲線を良く見ると、培養途中で立ち上がりを見せており (図 3 矢印)、この時期に異常細胞のポピュレーションが拡大したことが推察される。同様の変化は、新たに療品部より入手した同一ロットの細胞を再培養した際にも観察され、異常の出現は増殖曲線からも予測された。異常の出現時期を見ると今回再培養した際にはその時期が早くなっているが、これは今回通常と比べ、比較的コンフルエントに近い状態で継代したことが影響したと考えられる。

残念ながら、異常が観察された細胞の由来については性別、年齢、人種程度の情報しか得られないため、癌などの疾患や治療歴が無かったかを知ることはできなかったが、細胞の提供者の体内に既にこうした異常が存在した可能性もあり、それを取り出

して培養したことにより、増殖性による選択圧がかかり、異常細胞の割合が増大していったと考えられる。これまでの検討で、この異常をもった細胞は不死化まではされていないことがわかっているが、がん化に向けたステップを踏み出しているとも考えられる。今後、細胞を利用した医薬品の製造においては、こうした異常を発生させる可能性を最大限除き、より良い品質の細胞を供給する必要がある。その意味で、低頻度から増殖性の異常をもった細胞を検出できる手法の確立が望まれる。理想的には低頻度な異常細胞をオールマイティーに高感度検出できる試験法が望まれるが、現状では難しいと考えられるため、増殖性を生かして、一定期間継代をして異常を増幅した後検出することが現実的な対処法であると考えられる。自家細胞からの移植のように時間的な制限がある場合には難しいが、汎用性のあるバンキングした幹細胞を利用する場合などに対しては、こうした検査を課することは必要であると考えられる。

我々の hMSC での結果と同様の報告が、iPS 細胞に関しても最近 Nature 誌に報告され、細胞樹立時のゲノム不安定性に関して警鐘がなされた。幹細胞株の樹立（含リプログラミング）やその後の *in vitro* での細胞培養の過程が、わずかに存在する増殖性のゲノム変異を伴った細胞の選択圧として働く危険性が示唆された。また、iPS 細胞において観察された遺伝子変異が、癌関連遺伝子に多く認められた点、および癌抑制遺伝子のプロモーター領域のメチル化が直接細胞を形質転換させるといった最近の報告を受け、癌化につながる変化としてのゲノム不安定性の評価の重要性が再認識

された。理想的には、個々の細胞におけるゲノム安定性が評価できれば良いが、既存の手法ではそこまでの感度はなく、ポピュレーション全体の平均として評価をせざるを得ない。そこで、増殖性の変化に着目し、一定期間培養を続けた後の細胞を使って評価するアプローチによりこの問題がある程度解決できるのではないかと考える。

さらに、ゲノムの安定性の評価指標としては、次世代シーケンサーの活用によるホールゲノム（前段階としてはエクソン）シーケンシングの活用が有効であると考え、遅ればせながら検討を開始した。今後を活用できる基礎的データとなることを期待したい。DNA シーケンサーをめぐる近年の進展は目を見張るものがあり、次々世代シーケンサーでは、一分子による測定も可能となることから、細胞一個レベルでの解析にも期待がかかる。また、コストダウンも進んで、既に次世代シーケンサーもパーソナルユースな機器となっており、全ゲノム解析が 1000 ドルでできる日も近づいている。そうになると、治療用の細胞の品質評価として、全ゲノムシーケンシングを標準的な試験として課することも現実的であると考えられる。

今回確認された hMSC における染色体異常は、品質管理という観点とは別に、その成因や増殖性のメカニズムに関して非常に興味もたれる。これまでの解析で、増幅部位に存在する遺伝子、および発現変化をする遺伝子群に関しての知見が得られているが、増殖性を説明するには至っていない。また、CGH 解析の結果から、増加したマーカー染色体は 7 番染色体由来と考えられたが、今回のセントロメア FISH の結

果から、セントロメアは 17 番染色体由来であることが確認された。ただし、m-FISH の結果からは他の部分に対しては 7 番染色体由来である可能性も考えられる。今後、クロモソームペインティング、切断点のシーケンス解析などで、詳細な染色体異常の解析を行なうことにより、異常成因に対して理解を深めたい。特に、17 番染色体は複雑なリアレンジメントを起こしていることが予想され、p53 遺伝子等の関与も含めて、次世代シーケンサーによる変異解析結果が注目される。

一方、プロテオーム解析を用いた細胞の品質および有効性に関する評価のための検討を LC-MS を用いて進め、Progenesis ソフトウェアの導入により、ノンラベル法によるサンプル間の定量比較を可能とした。これにより、今後、細胞、組織加工医薬品の品質評価に有用なバイオマーカーの開発につながることを期待される。使用した LTQ-Orbitrap 質量分析機は、高分解能、および高感度であり、ゆえに得られるデータの複雑性が高まることによりこれまでデータ解析の部分が研究を進める上で課題となっていたが、Progenesis ソフトウェアの導入により、この部分が効率化できた。ピークの認識等に関しまだ改良の余地があるものの、マニュアルでの検証を加えることにより、バイオマーカーの検索に関して、実用可能なレベルにあることが確認できた。本ソフトウェアは 2 次元電気泳動で培われた技術を元に画像ベースでのピークの検出およびアラインメントを行なっている点の特徴であるが、我々が独自に開発してきたソフトウェア mzMore は、数値データを直接取り扱っているという違いがあり、今後

は Progenesis での経験を生かし、数値データを扱う利点を強調できる形で独自の開発を進めたい。

LTQ-Orbitrap と Progenesis を組み合わせることにより、間葉系幹細胞のホールプロテオーム解析で、1 万を超えるペプチドシグナルを検出可能であることがわかった。タンパク同定に関しても、複数のデータを Progenesis でまとめて MASCOT 検索を行なうことにより、同定数の向上が可能となり、千以上のタンパク質の同定を行なうことができた。今回はモデルケースとして、3 対 3 のデータ比較であったが、本ソフトウェア上では、さらに多くの LC-MS データの定量比較と統計解析が可能であり、今後はバイオマーカー検出に向けた検討を進める予定である。

さらに、今回同定されたペプチドシグナルは、検出されたペプチド数からすると半分以下であり、今後はマーカー候補に絞った MS/MS 測定を行なうことで、さらに同定効率を上げることが課題である。また、一方で細胞由来のペプチドを網羅的に同定しリファレンスデータベースを作成することも有用であると考えられることから、今後この両面からのアプローチを行なっていきたい。

今回、継代数の違いによる変化をモデルケースとして解析し、ペプチドレベルでは 2 群間で明瞭な変化を示すペプチドが多く観察されたが、同定のついたタンパクレベルでの変化としては、はっきりとした変化は少なかった。その中で、発現変化のあったタンパク質として注目されるのは、細胞の増殖性に関与するタンパク質、および細胞骨格タンパクの変化である。前者は継代

により発現が低下することにより、増殖性の低下、後者は培養による細胞の形態変化につながっている可能性があり、今後さらに解析例を増やすことにより検証を行ないたい。

これまで検討を行ってきたプロテオーム解析に関しては、最新型タンデム質量分析装置の利用とデータ解析ソフト Progenesis の導入により、十分な量のペプチドシグナルの検出が可能となるとともに、ノンラベル法によるサンプル間の定量比較が可能となった。これにより、今後、細胞組織加工医薬品の品質評価に有用なバイオマーカーの開発につながると期待される。

さらに、hMSC の品質評価の手法として、その表面マーカーとされる CD 分子種に注目し、これらを質量分析装置を用いて一斉に定量する方法を確立した。質量分析装置では、測定ごとのコンディションの差により、正確な定量が難しいとされるが、安定同位体ラベルした合成ペプチドを内部標準として添加することにより、それが可能となった。今後は、より正確な定量へ向け、希釈サンプルを用いた直線性の確認を行うとともに、四重極型タンデム質量分析装置を用いたターゲット特異的選択イオンモニタリング (SRM) を組み合わせた MRM 法による定量法への応用を行いたい。MRM 法は、抗体を用いることなく、大量のタンパク質の同時定量を可能とする手法として注目されており、CD 分子種だけでなく、品質評価に有用なバイオマーカーとなるタンパク質を組み込むことにより、より信頼性の高い評価を行える試験系の確立が期待できる。

E. 結論

以前の研究において頻度は低いものの、hMSC 細胞の安定した異常として観察された染色体変化は、同一起源の細胞を用いて同一の異常が観察されたことより、細胞購入時より存在したことを証明することができた。生体内、もしくは hMSC の分離、樹立時にこうした増殖性の異常が発生していたという事実は、今後治療に用いる細胞の由来、および樹立時にその品質に対してより注意が必要であることを示唆している。現状では、低頻度からすべての異常を検出することは難しいため、増殖優位性を指標として、一部の細胞を用いて少し継代を進めた後、共通性のある異常を示さないことを確認した後にそのロットを利用するといった品質評価が望ましいと考えられる。また、次世代シーケンサーを用いた変異解析のコストダウンとスループットの向上により、細胞の品質評価への応用も現実的になりつつある。

他方、間葉系幹細胞のホールプロテオーム解析により、数多くのペプチドシグナルの検出とタンパク質の同定が可能となっていたが、細胞間の定量比較のためには、膨大なマススペクトルデータの効率的な解析が課題となっていた。これに対しては、市販のソフトウェアである Progenesis LC-MS の利用により、ノンラベルによる定量比較がある程度可能であることが示され、今後細胞の品質評価に有効なバイオマーカーの検索に活路が開かれた。ナノ LC-MS を用いた高感度分析により、間葉系幹細胞のハイスループットなプロテオーム解析が

可能となり、今後再生医療の実現に向けた細胞の標準化および品質チェックへの応用が期待できる。一方、MS/MS 測定を用いたタンパク同定により、間葉系幹細胞に特徴的な表面 CD マーカー分子を網羅的に検出できた。そして、安定同位体ラベルをした合成ペプチドを内部標準として用いることにより、10 種の hMSC 特異的 CD 分子種を、質量分析装置により同時に定量可能な試験系を確立できた。

G. 健康危険情報

特になし

H. 研究発表

1. 論文発表

Tanabe S, Sato Y, Suzuki T, Suzuki K, Nagao T, Yamaguchi T.
Gene expression profiling of human mesenchymal stem cells for identification of novel markers in early- and late-stage cell culture.
J Biochem. 144: 399-408, 2008.

Watanabe T, Tanaka G, Hamada S, Namiki C, Suzuki T, Nakajima M, Furihata C.
Dose-dependent alterations in gene expression in mouse liver induced by diethylnitrosamine and ethylnitrosourea and determined by quantitative real-time PCR.
Mutat Res. 673: 9-20, 2009.

Yamaguchi T, Suzuki T, Arai H, Tanabe S, Atomi Y
Continuous mild heat stress induces differentiation of mammalian myoblasts, shifting fiber type from fast to slow.
Am. J. Physiol. Cell Physiol. 298 : C140-C148, 2010.

鈴木孝昌

日本の体外診断用医薬品の規制をめぐる動向
～DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標の策定
PHARMSTAGE 7月号 1-2 (2010)

2. 学会発表

T. Suzuki, T. Suresh, T. Oshizawa, K. Ramesh, K. Suzuki Proteomics approach to find new biomarkers for genotoxicity in mouse urine.

欧州環境変異原学会 2008 (2008年9月)

T. Suzuki, M. Kogi, M. Honma, S. Tanabe, T. Yamaguchi SNP and CGH array analysis on amplification profile of the c-myc gene

第67回日本癌学会学術総会(2008年10月)

押澤正, 豊田淑江, 内田恵理子, 鈴木孝昌, 鈴木和博, 山口照英 カルシウム結合タンパク質 S100A8 は HL-60 細胞の好中球様分化において増殖・分化に重要な働きをする (その2)

BMB2008 (2008年12月)

田邊思帆里, 佐藤陽治, 鈴木孝昌, 鈴木和博, 山口照英 ヒト間葉系幹細胞における培養分化マーカー同定に関する遺伝子発現プロファイリング

BMB2008 (2008年12月)

多田隈英未, 櫻井幹也, 渡辺貴志, 鈴木孝昌, 成見香瑞範, 浜田修一, 平山満朝, 真田尚和, 小枝暁子, 中嶋圓, 大信田系裕, 佐久間智宏, 降旗千恵 遺伝子傷害性肝発がん物質および非遺伝子傷害性肝発がん物質投与マウス肝臓における遺伝子発現の比較解析

BMB2008 (2008年12月)

櫻井幹也, 多田隈英未, 花原泉, 渡辺貴志, 鈴木孝昌, 降旗千恵 マウス肝臓における遺伝子傷害性肝発がん物質 Chrysene 投与後短時間での遺伝子発現解析

BMB2008 (2008年12月)

新井祐子, 多田隈英未, 渡辺貴志, 浜田修一, 鈴木孝昌, 中嶋圓, 降旗千恵 ジェチルニトロソアミン投与マウス肝臓における、遺伝子発現の経時変化および用量依存性変化の解析

BMB2008 (2008年12月)

スレッシュ テイルパッティ, ラメッシュドス, 押澤 正, 鈴木和博, 鈴木孝昌 プロテオミクス手法を用いた遺伝子傷害性の新しいバイオマーカー探索

日本環境変異原学会第37回大会(2008年12月)

鈴木孝昌, 降旗千恵 Collaborative study on the toxicogenomics in JEMS/MMS

日本環境変異原学会第37回大会(2008年12月)

鈴木孝昌, 小泉朋子, 本間正充, 中嶋圓, 濱田修一, 渡辺貴志, 降旗千恵 トキシコゲノミクスに関する JEMS/MMS 共同研究 II: 遺伝子障害性発癌物質の迅速スクリーニング系としての TaqMan Low Density Array の評価

日本環境変異原学会第37回大会(2008年12月)

降旗千恵, 渡辺貴志, 夏目匡克, 中嶋圓, 濱田修一, 多田隈英未, 櫻井幹也, 花原泉, 小枝暁子, 佐久間智宏, 大信田系裕, 前田晃央, 成見香瑞範, 真田尚和, 平山満朝, 大山ワカ子, 岡田恵美子, 本田大士, 須藤鎮世, 鈴木孝昌 トキシコゲノミクスに関する JEMS/MMS 共同研究(2008年): 遺伝子傷害性および非遺伝子傷害性肝がん原物質についての精選した 27 遺伝子に関する qPCR 法による遺伝子発現解析

日本環境変異原学会第37回大会(2008年12月)

浅野哲秀, 西川貴史, 笠松俊夫, 青儀巧, 岡宏明, 小島肇, 伊東悟, 鈴木孝昌, 原巧, D. Gibson, 林 真 皮膚細胞を用いる小核試験—開発と検証—

日本環境変異原学会第37回大会(2008年12月)

鈴木孝昌, 田邊思帆里, 小木美恵子, 押澤正, 佐藤陽治, 山口照英, 鈴木和博 ヒト間葉系幹細胞継代培養時の染色体安定性の解析

第8回日本再生医療学会総会

鈴木孝昌, Suresh Thirupathi, 押澤正, Ramesh Doss, 田邊思帆里, 佐藤陽治, 鈴木和博 細胞・組織加工医薬品の品質評価および標準化に向けたプロテオーム解析技術の利用

日本ヒトプロテオーム機構第7回大会(2009年7月)

T. Suzuki, A. Kohara, A. Ramadan, Y. Kikuchi, M. Honma, M. Hayashi Comparative study on in vivo genotoxicity of ochratoxin A and aristolochic acid as a causative for the Balkan Endemic Nephropathy
10th International Conference on Environmental Mutagens (2009年8月)

C. Furihata, T. Watanabe, A. Tadakuma, M. Kido, Y. Ishikawa, M. Natsume, M. Nakajima, T. Suzuki, S. Hamada, A. Koeda, K. Narumi, K. Oshida, A. Maeda, M. Hirayama, T. Sakuma, H. Sanada, I. Hanahara, M. Sakurai, W. Ohyama, E. Okada, H. Honda, S. Sutou Differential gene expression and gene networks induced with genotoxic and non-genotoxic hepatocarcinogens in mouse liver examined by quantitative real-time PCR
10th International Conference on Environmental Mutagens (2009年8月)

H. Takasawa, H. Suzuki, I. Ogawa, Y. Shimada, K. Kobayashi, Y. Terashima, H. Matsumoto, R. Ohta, K. Oshida, J.

Tanaka, C. Aruga, N. Ikeda, T. Suzuki, T. Hagiwara, S. Hatakeyama, K. Nagaoka, J. Yoshida, T. Imamura, A. Miyazaki, Y. Saitou, S. Minowa, M. Kawabata, M. Hayashi Summary of collaborative studies of liver micronucleus assay in young rats · JEMS/MMS Collaborative Study Group

10th International Conference on Environmental Mutagens (2009年8月)

T. Suzuki, Y. Luan, A. Kohara, M. Kogi, S. Tanabe, M. Honma, T. Yamaguchi, K. Suzuki Patterns of c-myc amplification revealed by the CGH array
Workshop: Genomics in Cancer Risk Assessment (2009年8月)

C. Furihata, T. Watanabe, K. Suenaga, H. Takasawa, A. Tadakuma, M. Kido, Y. Ishikawa, M. Natsume, M. Nakajima, T. Suzuki, S. Hamada, A. Koeda, K. Narumi, K. Oshida, A. Maeda, M. Hirayama, T. Sakuma, H. Sanada, I. Hanahara, M. Sakurai, W. Ohyama, E. Okada, H. Honda, S. Sutou Comparative analysis of gene expression and network between genotoxic and non-genotoxic hepatocarcinogens in mouse and rat liver examined by quantitative real-time PCR
Workshop: Genomics in Cancer Risk Assessment (2009年8月)

T. Suzuki Genomic and Proteomic Approach in Toxicology

International Conference on Environment, Occupational & Lifestyle Concerns (2009年9月)

T. Suzuki Proteomics approach to find new biomarkers for toxicity

International Conference on Molecular Tools in Environmental Toxicology (2009年9月)

鈴木孝昌 個の医療の実現に向けて必要となる診断技術

第46回全国衛生化学技術協議会年会 (2009年11月)

鈴木孝昌, 小原有弘, ラマダン アリ, 菊池裕, 本間正充, 林 真 バルカン腎症の原因物質としてのアリストロキア酸およびオクラトキシンA

日本環境変異原学会第38回大会 (2009年11月)

スレッシュ テイルパッティ, ラメッシュ ドス, 押澤 正, 宮澤明史, 鈴木和博, 鈴木孝昌 ショットガンプロテオミクスによる変異原研究-遺伝子傷害性物質処理したマウス尿を使った検討

日本環境変異原学会第38回大会(2009年11月)

降旗千恵, 渡辺貴志, 末永和也, 高沢博修, 鈴木孝昌, 夏目匡克, 中嶋圓, 濱田修一, 多田隈英未, 小枝暁子, 成見香瑞範, 大信田系裕, 前田晃央, 平山満朝, 佐久間智宏, 真田尚和, 大山ワカ子, 岡田恵美子, 本田大士, 須藤鎮世 トキシ

コゲノミクスに関する JEMS/MMS 共同研究 (2009年): ラットとマウス肝臓における qPCR 法による遺伝子発現比較解析
日本環境変異原学会第38回大会 (2009年11月)

鈴木孝昌, 小原有弘, 小木美恵子, 田邊思帆里, 本間正充 8番染色体特異的 CGH アレイ解析による各種がん細胞株での c-myc 遺伝子領域増幅形式の解析
第68回日本癌学会学術総会 (2009年10月)

西川可穂子, 山下香織, 石井暁子, 伊藤友美, Thiruppathi Suresh, 鈴木孝昌, 藤原葉子 高脂肪食マウス肝臓におけるプロテオーム解析 -食餌性レスベラトロールの評価-
日本農芸化学会 2010年度大会 (2010年3月)

鈴木孝昌, 押澤 正, スレッシュ テイルパッティ, 宮澤明史, 辻 勉, 鈴木和博 定量解析ソフトウェアを用いたノンラベル法による比較プロテオーム解析 -細胞・組織加工医薬品の品質評価へのアプローチ-
日本ヒトプロテオーム機構第8回大会 第6回日本臨床プロテオーム研究会連合大会 (2010年7月)

鈴木孝昌 降旗千恵

Proteome analysis for urinary biomarkers specific to genotoxic hepatocarcinogens
第69回日本癌学会学術総会大会 (2010年9月)

鈴木孝昌

バルカン腎症とアリストロキア酸とお菊虫
第46回全国衛生化学技術協議会年会
(2010年11月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

鈴木孝昌, スレッシュ テイルパッティ, 押
澤 正, 宮澤明史, 辻 勉, 内野 正, 五十
嵐良明, 西村哲治, 鈴木和博

尿プロテオーム解析を用いた砒素の生体影
響評価のためのバイオマーカー探索

日本環境変異原学会第39回大会 (2010年
11月)

鈴木孝昌, 押澤 正, スレッシュ テイルパ
ッティ, 田邊思帆里, 宮澤明史, 辻 勉, 鈴
木和博

質量分析装置を用いた間葉系幹細胞特異的
CDマーカーの網羅的検出と定量

第10回日本再生医療学会総会 (2011年3
月)

鈴木孝昌

Rodent Micronucleus Tests - Past,
Present, and Future -
International Workshop on "Micronucleus
Assays with Buccal Cells for Human and
Environmental Monitoring" (2011年2月)
(Tiruchirappalli, India)

押澤正, 豊田淑江, 内田恵理子, 鈴木孝昌,
山口照英, 鈴木和博

カルシウム結合タンパク質 S100A8 は HL-60
細胞の好中球様分化において増殖・分化に重
要な働きをする (その3)

第33回日本分子生物学会年会・第83回日本
生化学会大会 合同大会 (2010年12月)

図1 異常を持つhMSC株での核型解析とCGH解析結果

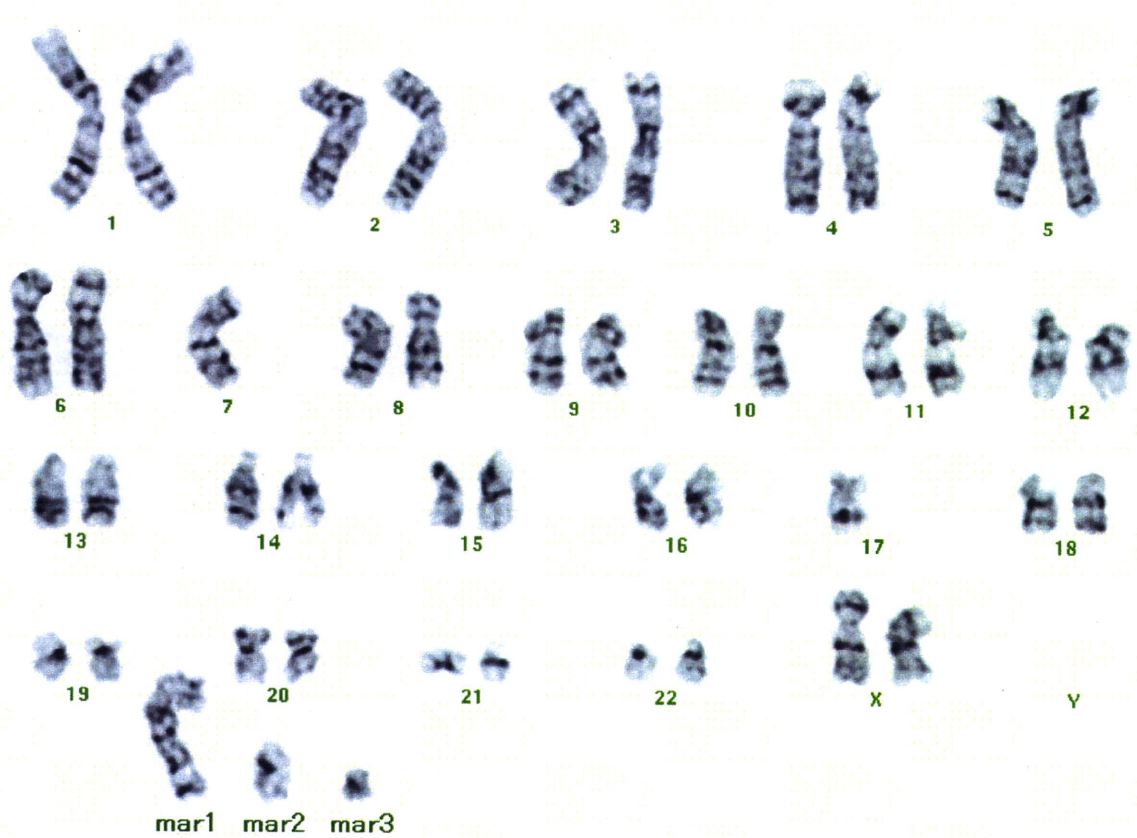
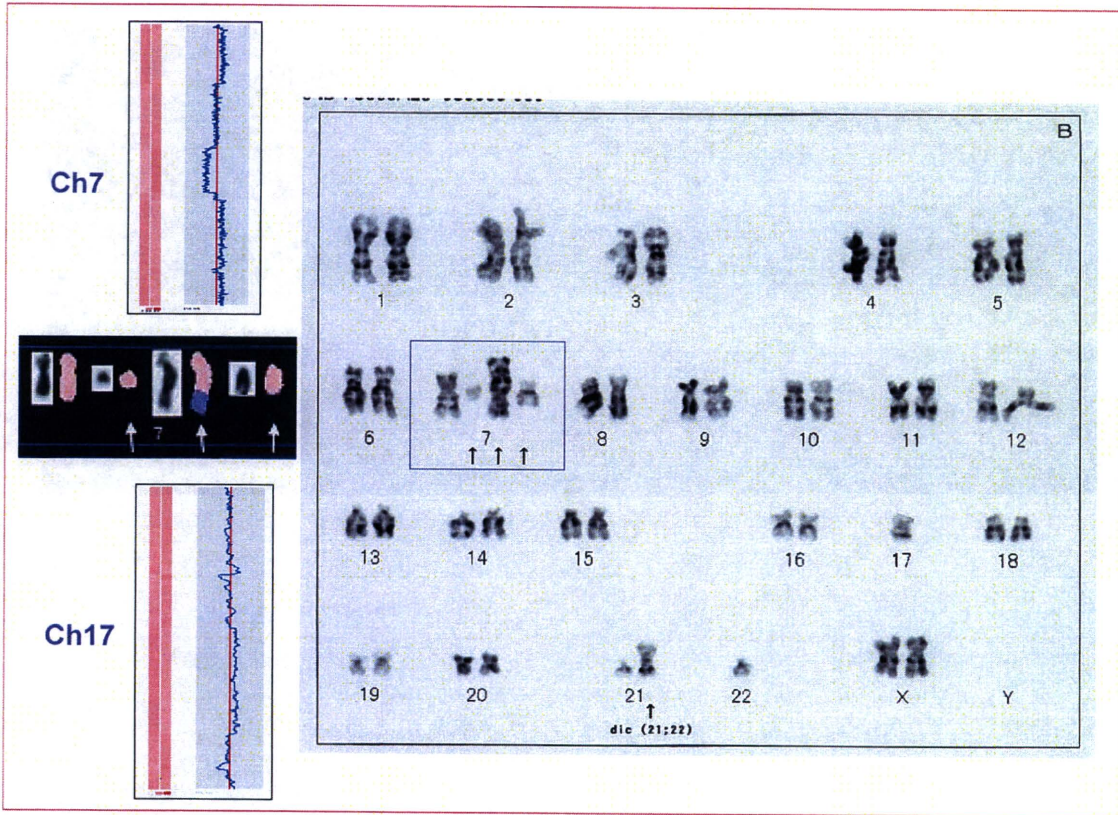


図2 8番および17番染色体セントロメアプローブによる2重染色FISHによる異常検出例

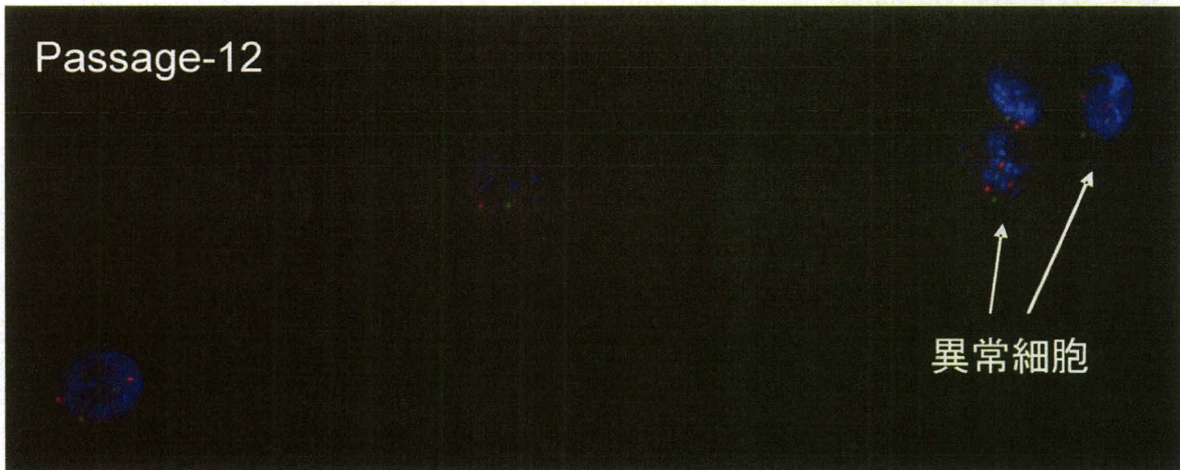


図3 hMSC細胞株の増殖曲線と異常ロット4F1560のFISH解析による異常頻度変化

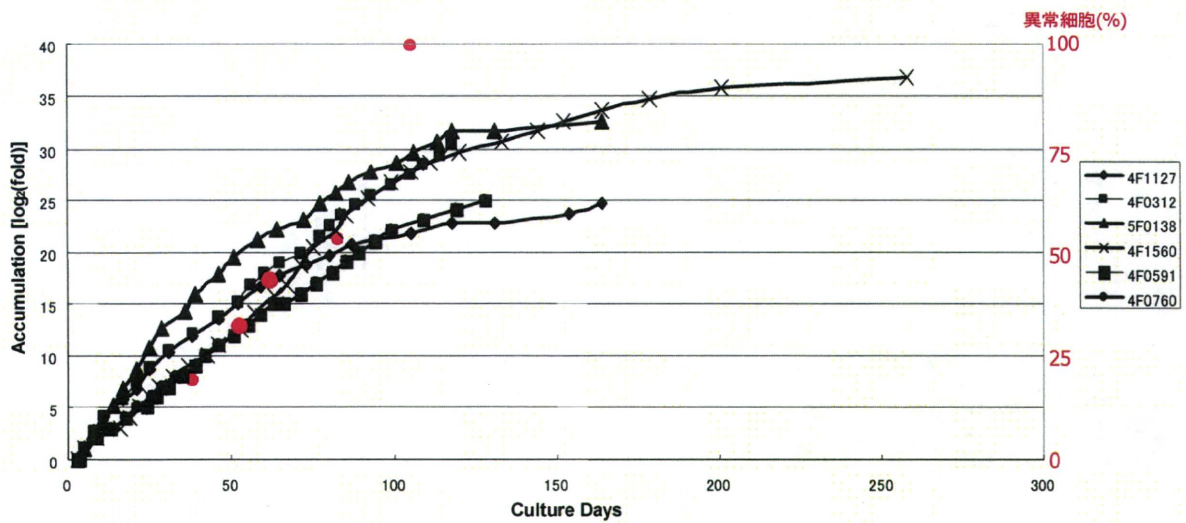


図 4 同一ロット別継代細胞のセントロメア FISH 解析 (入手後 11 継代)

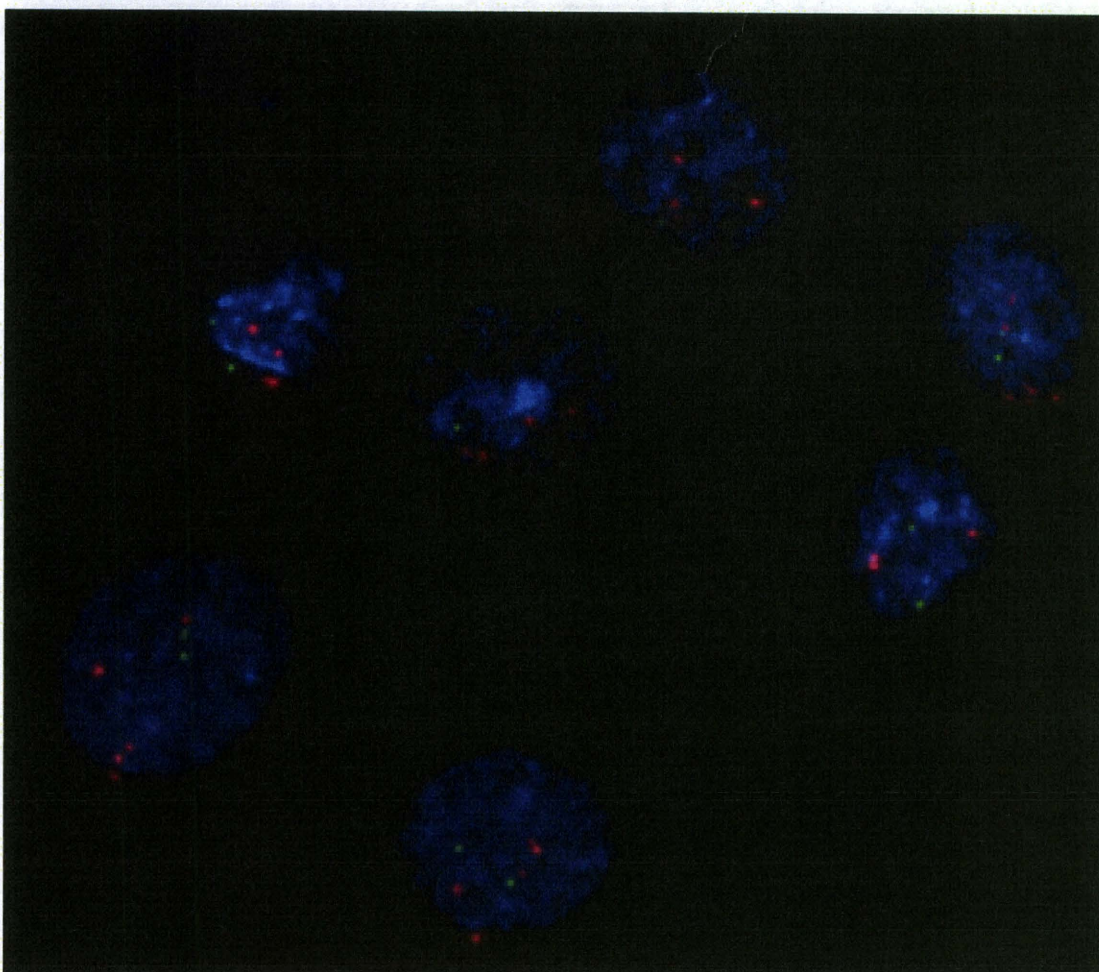
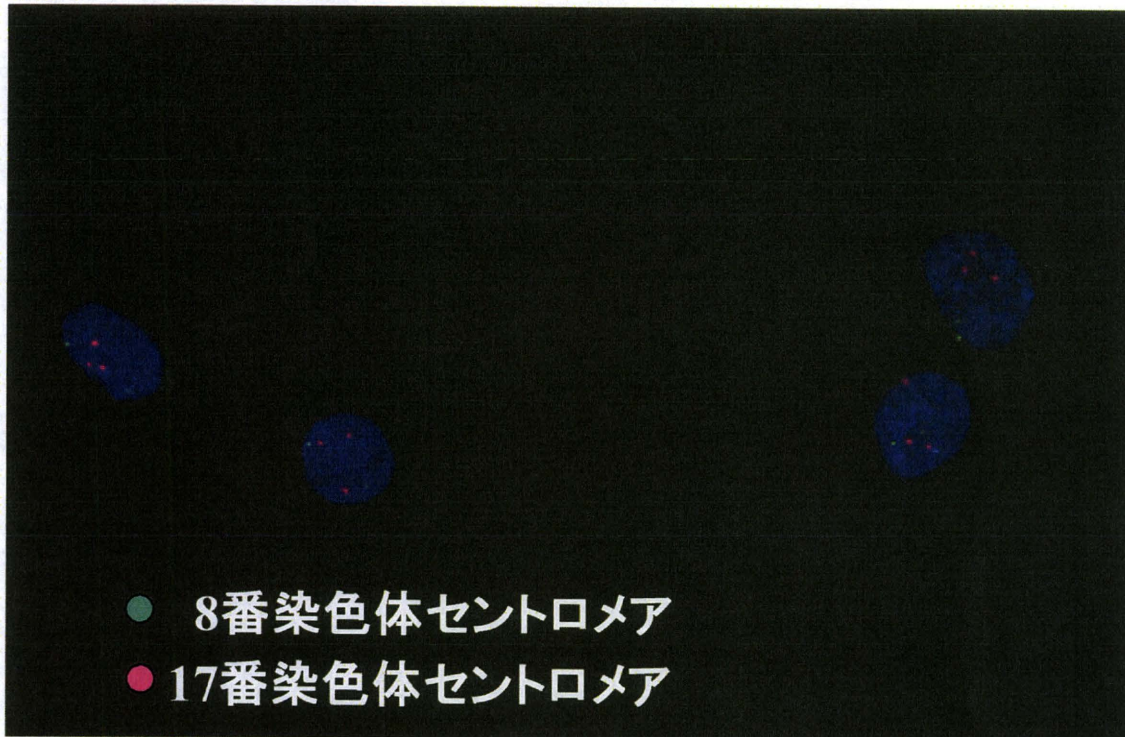
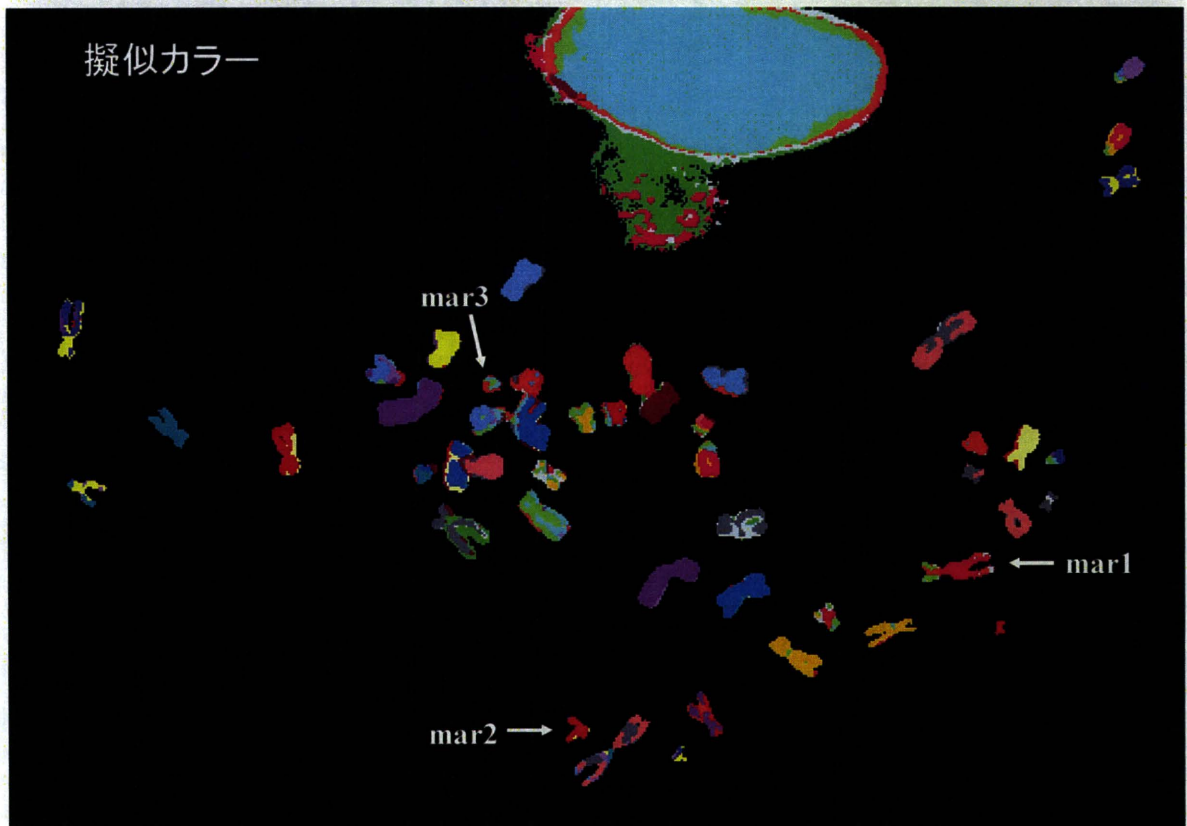
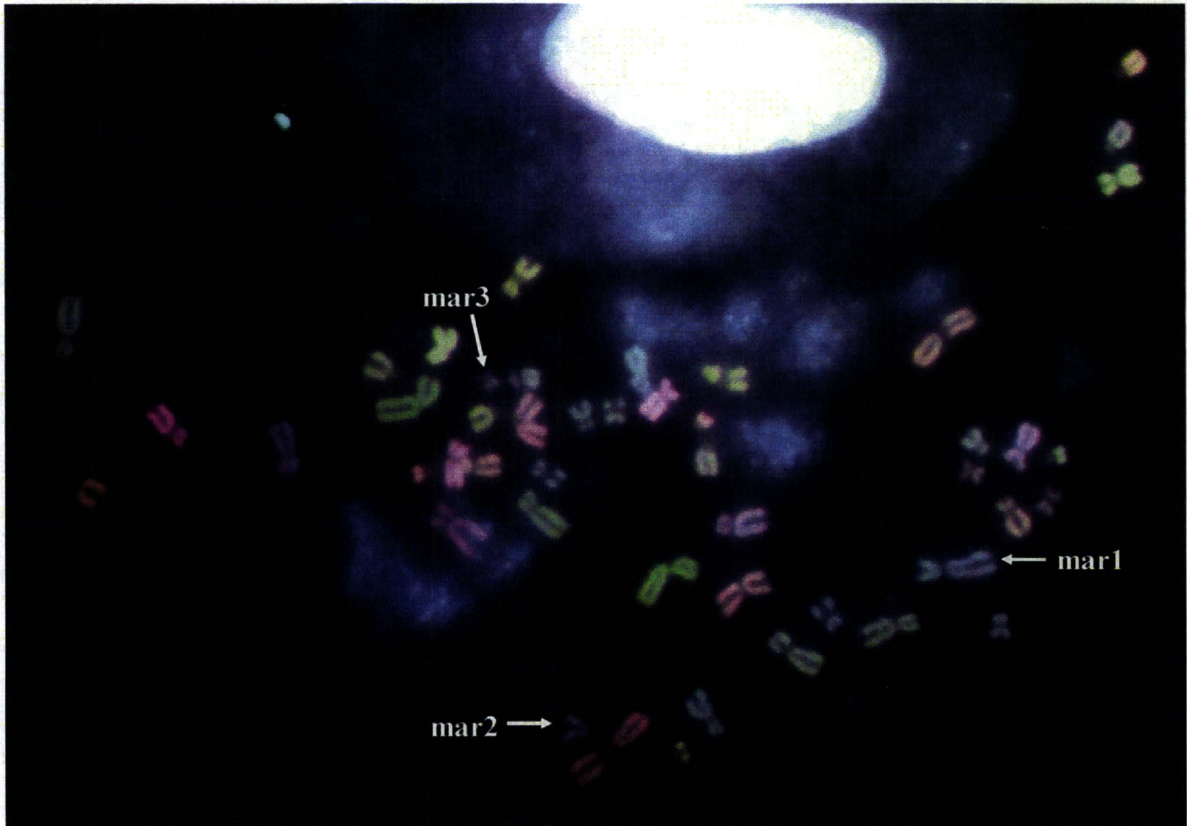


図5 新しく入手した同一ロット hMSC 細胞の m-FISH 解析 (約 20 継代)



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	X	Y
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	---	---

図6 新しく入手した同一ロット hMSC 細胞のメタフェーズ FISH

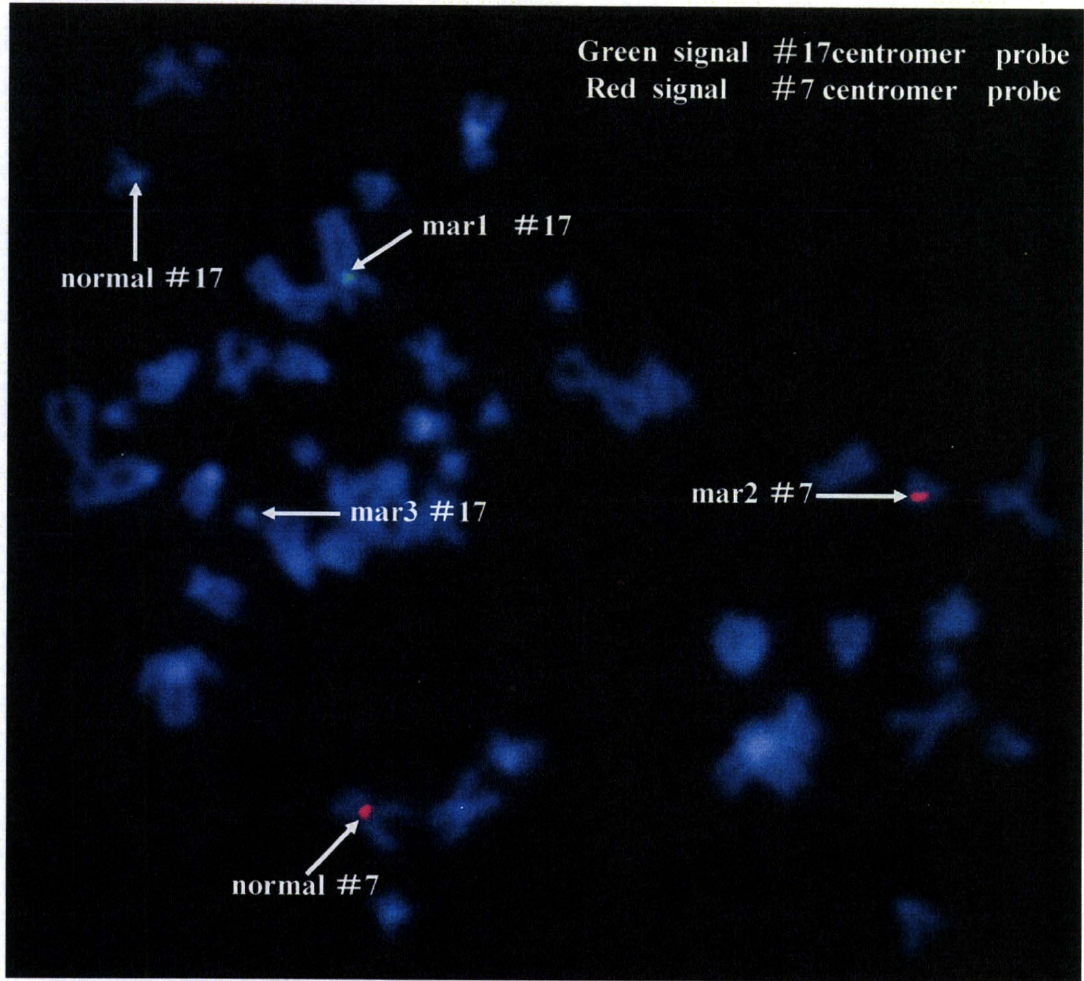


図7 MSCの培養過程における遺伝子発現変化のクラスター解析

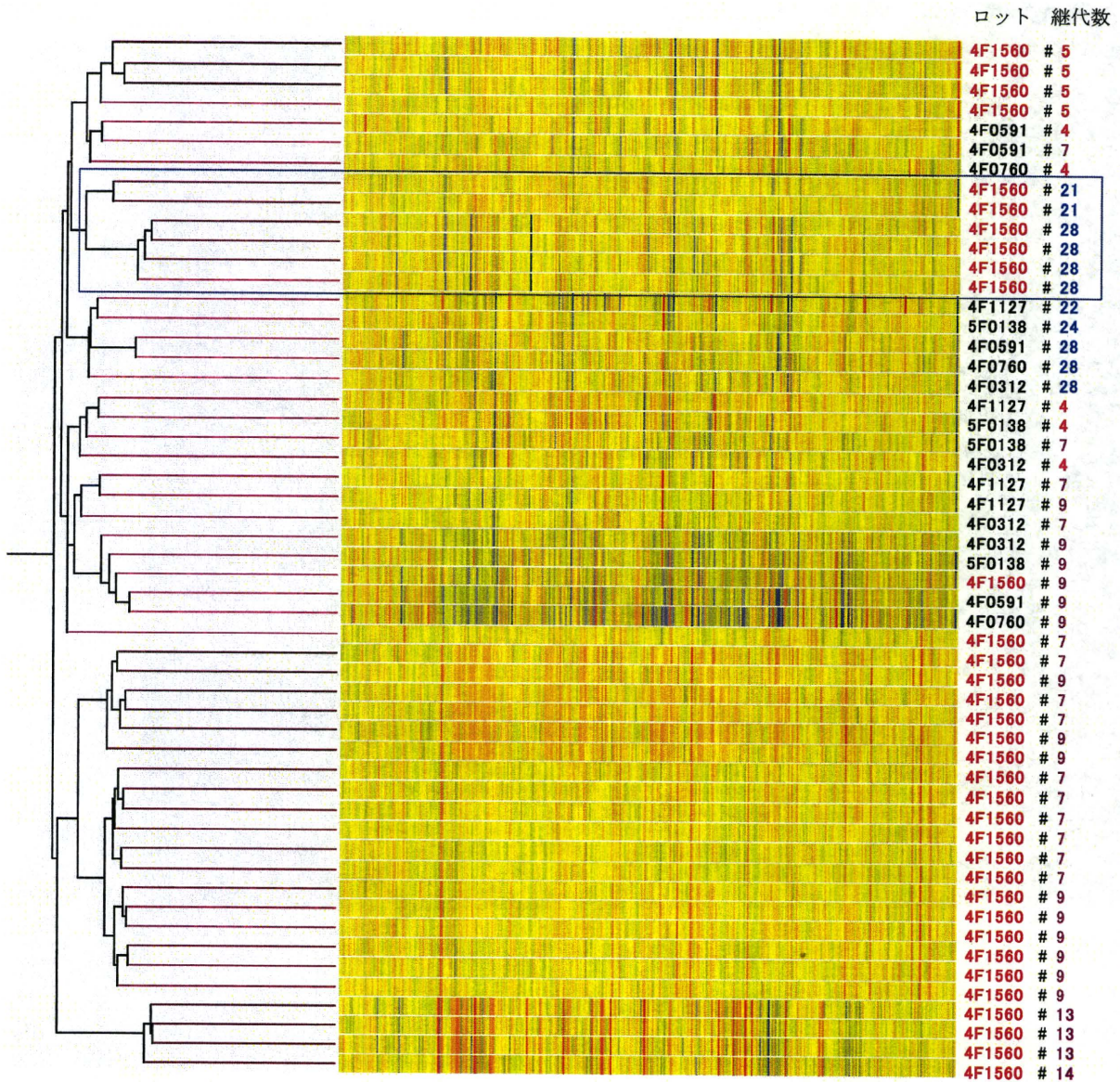


図8 長期培養した異常ロット4F1560に特徴的に変化した遺伝子の染色体上の位置

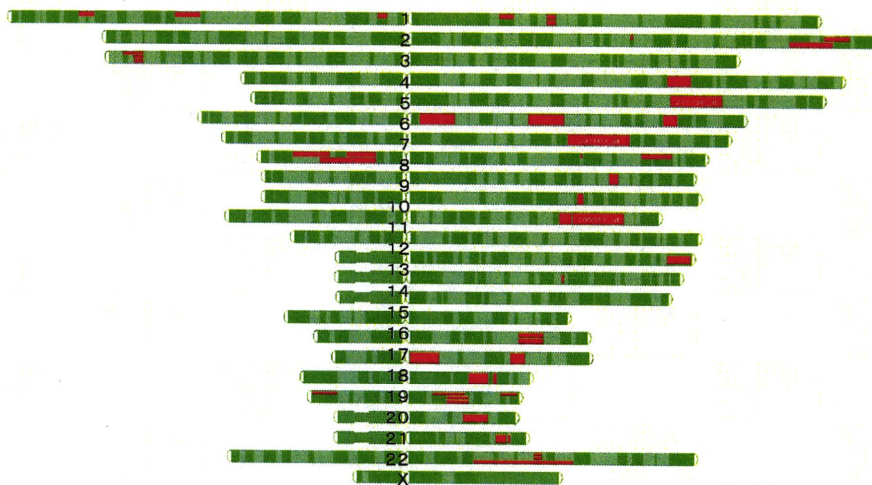
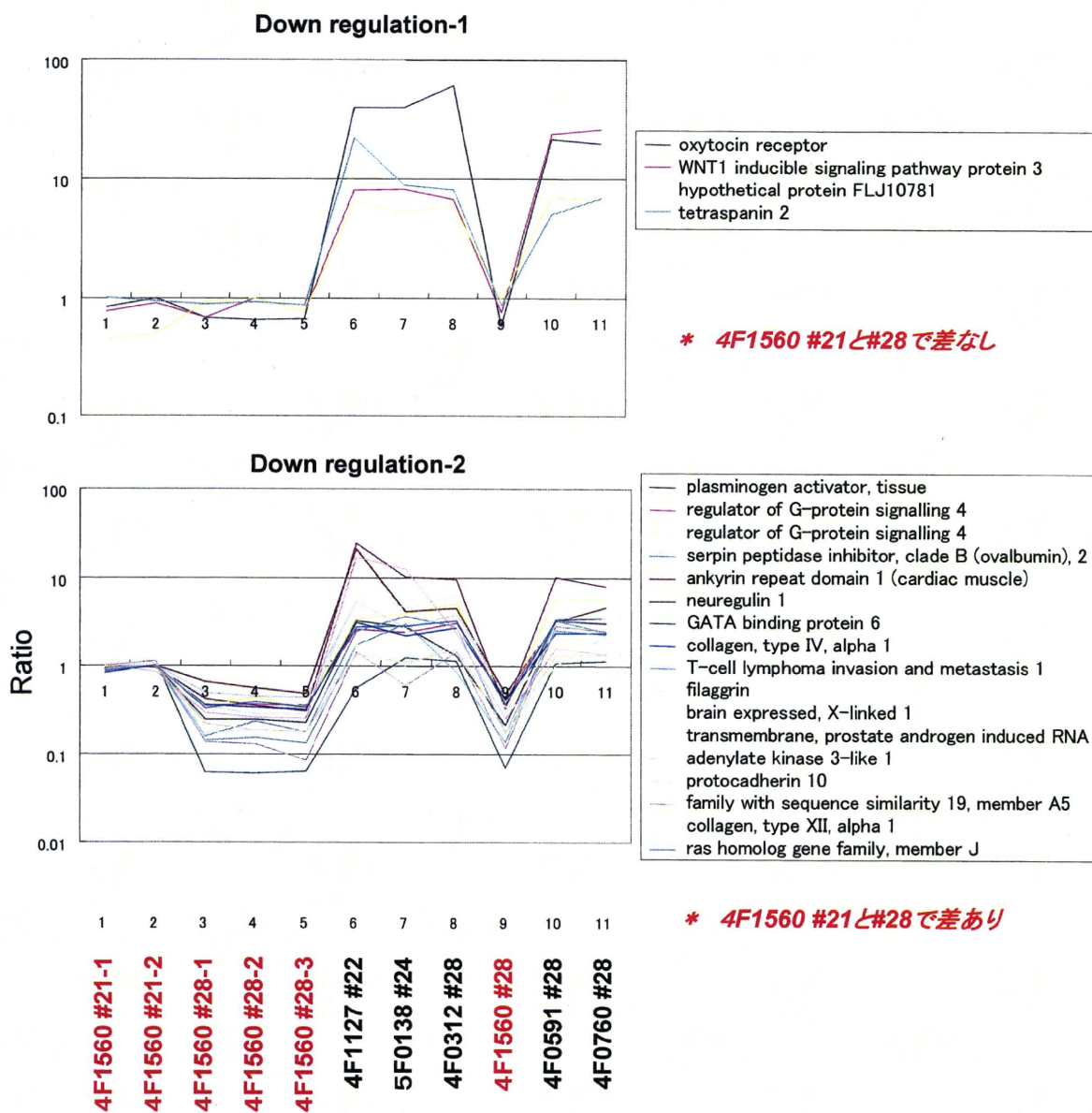


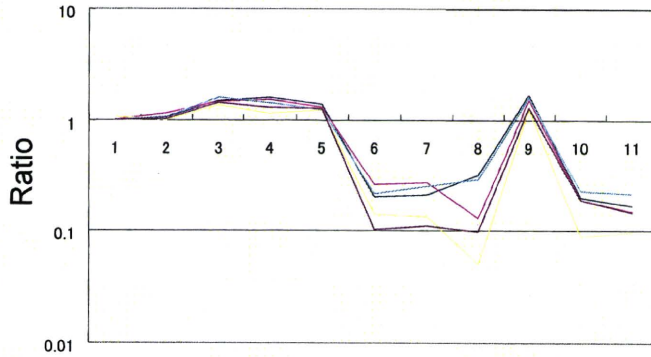
図9 長期培養した異常ロット4F1560に特徴的に変化した遺伝子群とそのパターン分類

(異常ロットにおいて発現が低い遺伝子群)



(異常ロットにおいて発現が高い遺伝子群)

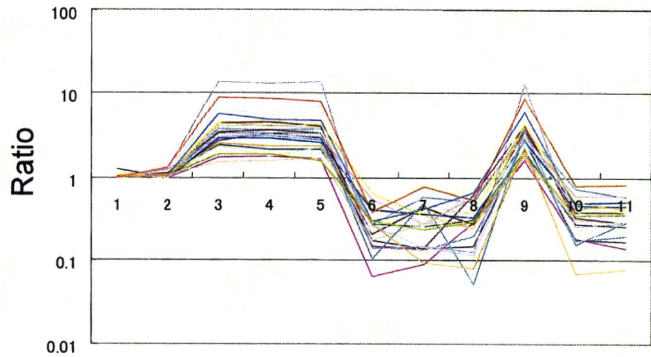
Up regulation-1



- adenosine deaminase
- platelet-derived growth factor receptor-like
- potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J2
- adenosine deaminase
- Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J2

* 4F1560 #21と#28で差なし

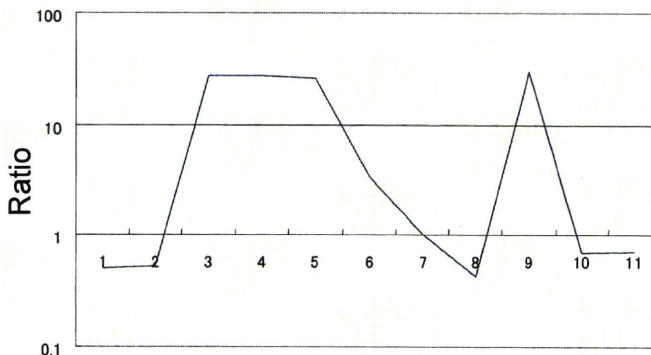
Up regulation-2



- hypothetical gene supported by NM_182582
- fibulin 1
- apolipoprotein E
- CD302 antigen
- fibulin 2
- nephroblastoma overexpressed gene
- G protein-coupled receptor associated sorting protein 1
- loss of heterozygosity, 11, chromosomal region 2 A
- 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2B
- potassium voltage-gated channel, Shal-related subfamily 2
- sushi, von Willebrand factor type A
- odd-skipped related 2 (Drosophila)
- CDNA FLJ42670 fis, clone BRAMY2022383
- mannosidase, alpha, class 1C, member 1
- lipopolysaccharide binding protein
- Clones 24632 and 24634 mRNA sequence
- platelet derived growth factor D
- transcription elongation factor A (SII)-like 7
- N-acetylgalactosaminyltransferase-like 2
- SAM domain containing 1
- Transcribed locus
- protocadherin beta 7

* 4F1560 #21と#28で差あり

Up regulation-3



- secretogranin II (chromogranin C)

* 他と少し違うパターン

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

4F1560 #21-1
 4F1560 #21-2
 4F1560 #28-1
 4F1560 #28-2
 4F1560 #28-3
 4F1127 #22
 5F0138 #24
 4F0312 #28
 4F1560 #28
 4F0591 #28
 4F0760 #28

図 10 HL60 細胞のプロテオーム解析における装置間のパフォーマンス比較

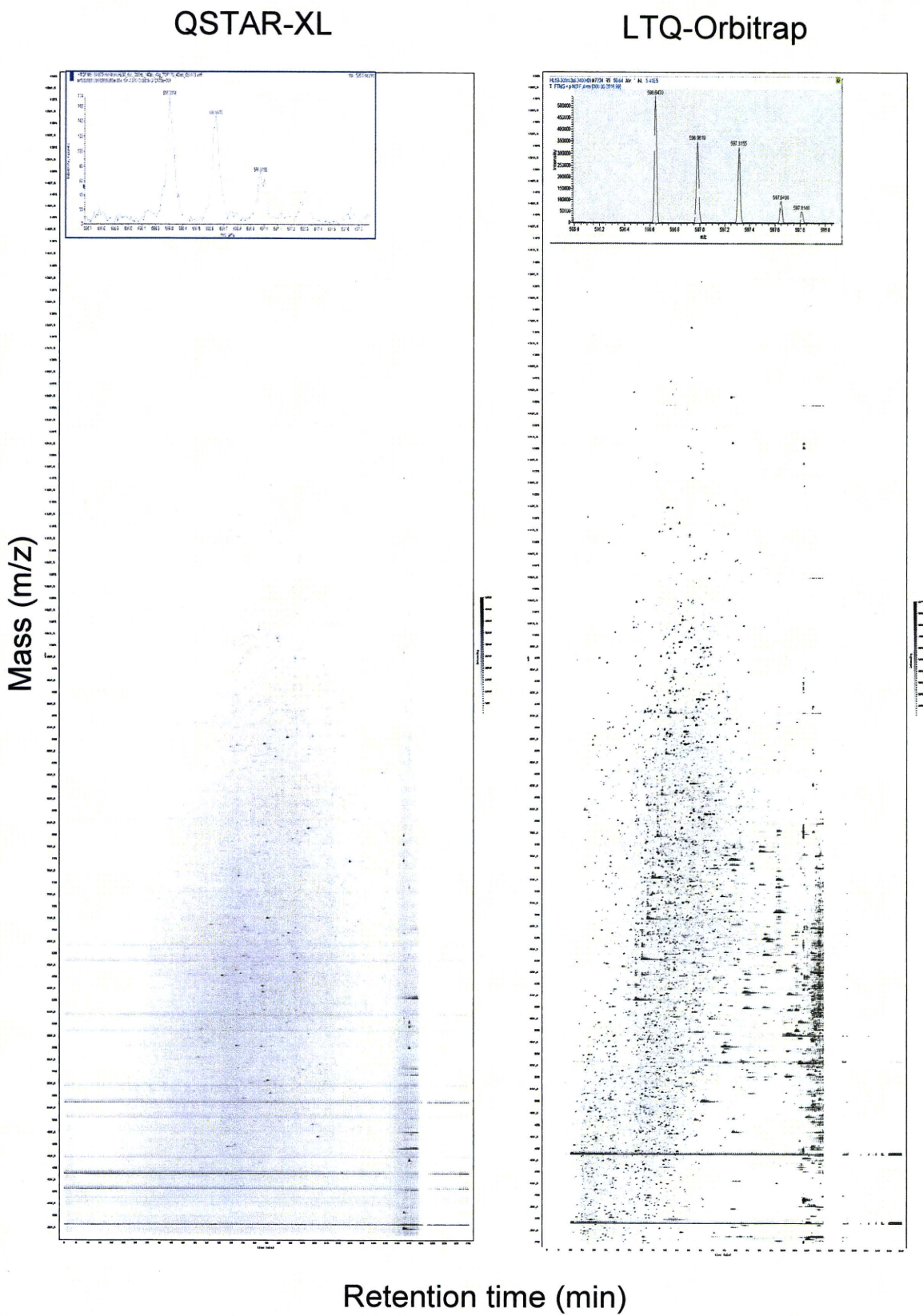


図 11 hMSC 細胞のプロテオーム解析

hMSC (4F1560 #18) Pep3D View

