

- 月 サンフランシスコ
【国内学会】
(一般演題)
- (3) Masaki Kinehara, Miho Kusuda Furue
Development of an alkaline phosphatase activity-based high throughput screening assay using human iPS cells with chemically defined culture conditions. 日本組織培養学会第 83 回大会【口頭発表】 5 月 岡山
- (4) 三村 純代、木村 直大、平田 みつひ、舘山 大輝、林田 みどり、小原有弘、岡本 哲治、二川 浩樹、古江一楠田 美保 TGF- β 1 は未分化性と多分化能を維持したヒト間葉系幹細胞増殖を促進する. 日本組織培養学会第 83 回大会【口頭発表】 5 月 岡山
- (5) 稲村充、川端健二、高山和雄、田代克久、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之: HEX 遺伝子の導入によるヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞からの効率良い肝幹細胞への分化誘導. 第 16 回肝細胞研究会【口頭発表】 6 月 秋田
- (6) 鍋島巧 マウス人工多能性幹(iPS)細胞の未分化性と多分化能を維持した単層無血清培養系の確立. 第 64 回日本口腔科学会学術集会 6 月 北海道
- (7) 高山和雄、稲村 充、田代克久、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、川端健二、水口裕之: SOX17 遺伝子導入によるヒト ES・ヒト iPS 細胞からの内胚葉および胚体外内胚葉への選択的分化誘導. 第 17 回 肝細胞研究会 6 月 秋田
- (8) 高山和雄、稲村 充、田代克久、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、川端健二、水口裕之: SOX17 遺伝子導入によるヒト ES・ヒト iPS 細胞からの内胚葉および胚体外内胚葉への選択的分化誘導. 第 9 回 次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム 2010 10 月 京都
- (9) 山崎佐知子 マウス人工多能性幹(iPS)細胞の無血清培養系の確立. 第 47 回日本口腔組織培養学会学術大会 平成 22 年 11 月 高知
- (10) 高山和雄、稲村 充、川端健二、田代克久、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之: SOX17 遺伝子導入によるヒト ES・ヒト iPS 細胞からの内胚葉あるいは胚体外内胚葉への選択的分化誘導. 第 10 回 日本再生医療学会総会 2011 年 3 月 東京
- (11) 高山和雄、稲村 充、川端健二、形山和史、櫻井文教、古江一楠田美保、水口裕之: HNF4 α 遺伝子導入によるヒト ES・ヒト iPS 細胞からの成熟肝細胞への高効率分化誘導. 第 131 年会 日本薬学会 2011 年 3 月 静岡
(シンポジウム・ワークショップ等)
- (12) 古江一楠田 美保 スーパー特区「ヒト iPS 細胞を用いた新規 in vitro 毒性評価系の構築」セミナー バンク事業及び幹細胞全般の状況について 日本製薬工業協会 5 月 東京
- (13) 古江一楠田 美保 上田忠佳、浅香勲、藤井万紀子、坂野俊宏 細胞培養士の育成に向けて培養指導士養成講習会 研究教育システム委員会主催・細胞 培養技術講習会 日本組織培養学会第 83 回大会 5 月 岡山
- (14) 小原有弘、古江一楠田 美保 マイコプラズマ汚染の現状と論文投稿における国際動向 日本組織培養学会第 83 回大会 ワークショップ 5 月 岡山

- (15) 古江一楠田 美保 ヒト iPS 細胞培養の経験 S-イノベ網膜細胞移植医療に用いるヒト iPS 細胞から移植細胞への分化誘導に係わる工程および品質管理技術の開発研究会合 8月 大阪
- (16) 古江一楠田 美保 「Development of a drug toxicity test using iPS cells and serum-free culture conditions」第23回日本動物細胞工学会 2010 年度国際会議 シンポジウム 9月 札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

図 1. アスコルビン酸による骨分化マーカーへの影響

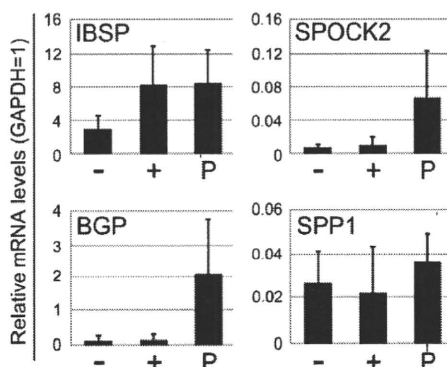


図 2. 細胞増殖能の解析

■ POWERDBY10
○ D-hESF10

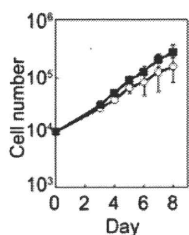


図 3. 細胞表面抗原発現の解析

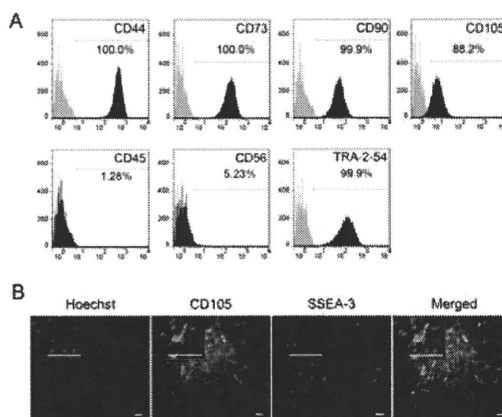


図 4. 長期継代による遺伝子発現への影響

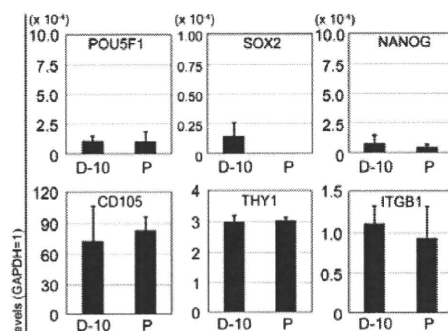
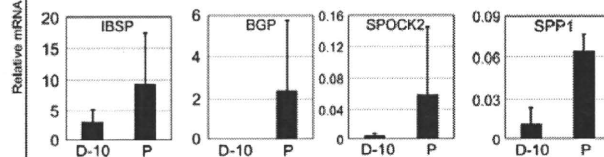
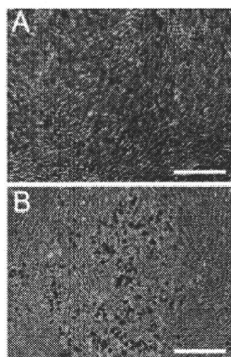


図 5. 長期継代による分化誘導能への影響



厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）

分担研究報告書

細胞資源におけるウイルス検出法開発に関する研究

分担研究者：清水 則夫 東京医科歯科大学 准教授

研究要旨

iPS 細胞作製法が発見されて以来、ヒト培養細胞研究資源の重要性が著しく増している。培養細胞を使用した研究の質を確保するためには、細胞株の品質管理を徹底することが必須であるが、なかでも培養細胞研究資源へのウイルス汚染に関する検討は十分行われていない。培養細胞研究資源を使用した研究の質を高めるためには、簡便・安価に多種類のウイルスを測定する手法を開発し、ヒト培養細胞研究資源のウイルス汚染の実態を把握することが必要である。本研究では、これまでに作製したウイルス検査系の検査対象ウイルス数を増やす事を目的に研究を行い、パラインフルエンザウイルス（PIV）1型、2型、3型、RSウイルス、コロナウイルス（OC43, NL63）、メタニューモウイルスの7種類のウイルス検出系の作製を完了した。

A. : 研究目的

医薬品開発や iPS 細胞を含めた再生医療研究が加速されており、それに伴いヒト培養細胞研究資源の重要性が著しく増している。実際、再生医療の研究に用いるヒト由来の分化能を持った培養細胞のバンクへの寄託も増加傾向にある。今後、再生医療の研究の質を高めるためには、ヒト培養細胞研究資源の品質管理法を確立し、研究に使用する培養細胞の品質管理を徹底することが求められる。培養細胞に微生物が持続感染すると、細胞の性質・増殖性、遺伝子発現パターン、動物に接種した際の細胞の挙動や動物の反応などが大きく変化する可能性があるため、細菌、マイコプラズマやウイルス汚染状況に関する情報は非常に重要である。実際、外国に細胞を出荷する際には、ウイルス汚染状

況に関する情報の添付を求められる事が多く、今後その必要性は増していくものと考えられる。

細菌・真菌・マイコプラズマなどと違い、ウイルスの増殖には生きた細胞が必須であり、しかもウイルスは組織・細胞特異性が高いため、培養法により多種類のウイルスの有無を同時に検査することは極めて難しい。したがって、PCR法などの核酸増幅法によりウイルスゲノムを直接検出することが必要となるが、その実用化には多くのウイルスを同時・高感度・安価に検出することが可能な新しい検査法の確立が望まれる。本研究では、細胞バンクが保有する細胞株や今後新たに寄託される培養細胞株の全数検査に使用する出来る実用的な新規ウイル

ス検査系を確立することを目的として研究を行なっている。本年度は、RNA ウイルス検査系の測定項目を増やすことを目的に研究を行った。

B: 研究方法

1. ウイルスゲノムの増幅

ウイルスゲノム RNA を RT-PCR 法により増幅した。○ウイルス遺伝子の増幅・検出にはアプライドバイオシステム社の ABI-Prism 7300 あるいはロッシュ社の LyghtCycler 480 を使用した。

○ RT-PCR 反応

- ・逆転写反応: 42°C 5 分
- ・PCR 反応: 95°C 15 秒, 60°C 60 秒 45 サイクル

○ 試薬

PCR 試薬: AmpliTaqGold & Gold Buffer (アプライドバイオシステムズジャパン) 5U 使用

RT-PCR 試薬 QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen)

プライマー: 通常のオリゴマーを使用 (配列は別途記載) 最終濃度 0.1~1 μM で使用

プローブ: Taqman Probe を使用 (配列をは別途記載) 最終濃度 0.1~0.2 μM で使用

2. RT-PCRによる測定方法

反応液の組成

RNA Sample	20 μl
2xBuffer	25 μl
RT-Taq	0.5 μl
RNase Free Water	4.5 μl

測定方法

- 各ウェル2ml の96ウェルリザーバーを使用し、Master Mixを330 μlとサンプルまたは陽性コントロール220 μlを混合する。その際、サンプルのRNA濃度が1 μg /ウェルになるように調製する。
- マルチピペッターで3回ピペッティングした後、あらかじめ作成した検査用96ウェルプレートに分注する。
- シールをして1000rpm, 3秒間遠心する。プ

レート逆にして1分間放置後、シェーカーでさらに1分振とうして、サンプルとプライマー・プローブをよく混合したのち RT-PCR 反応を開始する。

e. RT-PCR 反応後、結果を解析して、ウイルスの有無および量 (半定量) を測定する。

3. プライマー、プローブ配列

Genbank に登録されている遺伝子配列を BLAST 解析し、最も特異性の高いと思われる領域に下記 Primer, Probe を設定した。

★ パラインフルエンザウイルス 1 型

Forward Primer

GTTGTCAATGTCTTAATTCGTATCAATAATT

Reverse Primer

GTAGCCTMCCTTCGGCACCTAA

Probe

6FAM-TAGGCCAAAGATTGTTGTCGAGACTATTCCAA-iowaBK

★ パラインフルエンザウイルス 2 型

Forward Primer

F-AGGACTATGAAAACCATTACCTAAGTGA

Reverse Primer

R-AAGCAAGTCTCAGTTCAGCTAGATCA

Probe

6FAM-ATCAATCGCAAAGCTGTTTCAGTCACTGCTATAC-iowaBK

★ パラインフルエンザウイルス 3 型

Forward Primer

F-GATATAAGRATAAAATGGA

Reverse Primer

R-TCCCATGGACATTCATTGT

Probe

6FAM-CCTGGTCTTGATAGCAC-iowaBK

★ RSウイルス

Forward Primer

F-GCTCTTAGCAAAGTCAAGTTGAATGA

Reverse Primer

R-TGCTCCGTTGGATGGTGTATT

Probe

6FAM-ACACTCAACAAAGTCAACTTCTGTCATCCAGC-iowaBK

★ コロナウイルス (OC43)

Forward Primer

F-CGATGAGGCTATTCCGACTAGGT

Reverse Primer

R-CCTTCCTGAGCCTTCAATATAGTAACC

Probe

6FAM-TCCGCCTGGCAGGTAAGTCCCT-iowaBK

★ コロナウイルス (NL63)

Forward Primer

F-ACGTACTTCTATTATGAAGCATGATATTA

Reverse Primer

R-AGCAGATCTAATGTTATACTTAAACTACG

Probe

6FAM-ATTGCCAAGGCTCCTAAACGTACAGGTGTT-iowaBK

★ メタニューモウイルス

Forward Primer

F-TGCYGTAGCTTCAGTCAATTC

Reverse Primer

R-GGTGTTATTCCAGCRTTGTCTGAAAA

Probe

6FAM-ACAGAAGGTTCTTAATGTTGTGCGGCA-iowaBK

4. 検査系の感度、特異性の検討

(1) スタンダードの作成

各種ウイルスの RT-PCR 産物をクローニングして遺伝子配列を確認した後、制限酵素 Sal I または Nco I で消化して一本鎖にし、フェノールクロロホルム処理・エタノール沈殿後、OD 値を測定した。RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems (プロメガ) により RNA を合成し、添付のマニュアルに従い、鋳型 DNA の分解後に RNA を精製した。濃度測定結果からコピー数をもとめ、MS2RNA 10ng/ul 溶液 (ロシ

ユ) を使用して段階希釈液を作成した。

(2) 感度測定

披検ウイルス陰性を確認した細胞の RNA 1 μ g に各ウイルスのスタンダード 50 Copy を加えたものを作成し、感度測定に用いた。

(3) 特異性の確認

GenBank の相同性解析により各種ウイルスプライマー、プローブ配列の特異性を確認した。陽性コントロールと特定のウイルスが検出された検体を用いて、お互いの交差反応性の有無を検討した。

(倫理面への配慮)

倫理面の配慮が必要な研究は行っていない。

C : 結果

1. 検出感度の検討

検査系の感度を測定するため、披検ウイルス陰性を確認している細胞の RNA 1 μ g に各ウイルスのスタンダード RNA を $10^6 \sim 10^1$ コピー加えた測定用サンプルを各ウイルスごとに作成した。作成したサンプルを使用した検討の結果、スタンダードを加えなかった場合は全て陰性だったが、スタンダード RNA を加えたサンプルからはすべて陽性シグナルが検出され、測定系は全てのウイルスに対して 10 copies/reaction の測定感度を持つことを確認した。

実験結果を図 1 ~ 4 に示す。

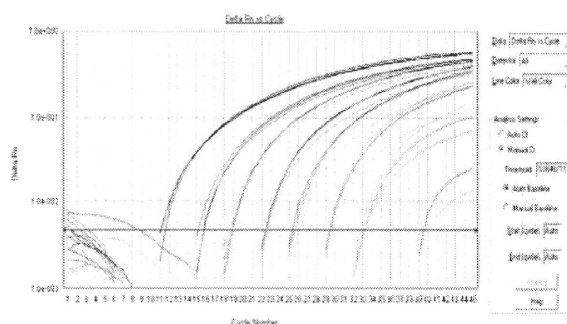


図 1 : パラインフルエンザウイルス (1, 2, 3 型) と RS ウイルスのスタンダードの測定結果

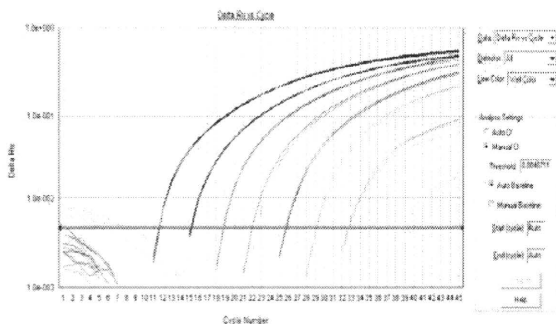


図 2 : コロナウイルス (OC43, NL63)、メタニューモウイルスの検定結果

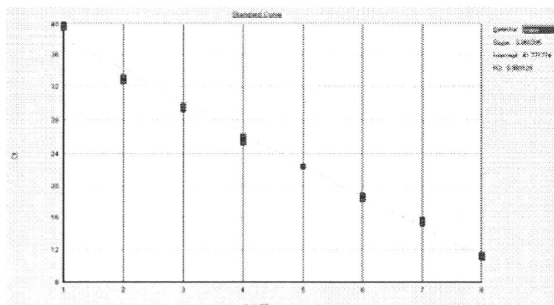


図 3 : RS ウイルスの定量曲線

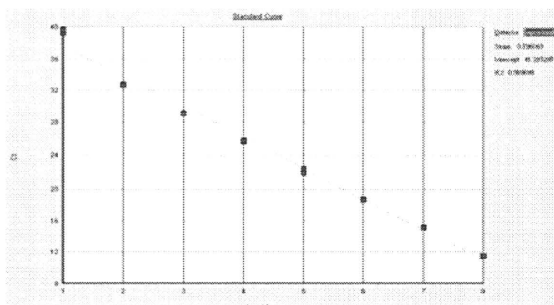


図 4 : メタニューモウイルスの定量曲線

実験の結果、7種類全てのウイルスに関し、10 copies/reaction 検出感度と 10^8 から 10^1 コピーのウイルスゲノムを定量可能な事が示された。

2. 交差反応性の検討

検査系の交差反応の有無を検証するため、披検ウイルス陰性が確認されている細胞の RANA1 μ g に各ウイルスのスタンダード 100~10000 コピー分を加えた測定用サンプルを各種ウイルスごとに作成した。各ウイルス検出系に作製した全ての測定用サンプルを個別に加え測定した結果、当該ウイルス検査系のスタンダードを加えた場合のみ陽性で、他のウイルススタンダードを加えた場合は陰性だった。さらに、ウイル

ス陽性が確定している臨床検体を用いた実験でも、交差反応性は認められなかった。したがって、今回作製したウイルス間相互の交差反応性は無いことが確認された。

D: 考察

1. 作製した RNA ウイルス検査系は合成核酸を使用して感度、交差反応性の有無などに関し、十分な性能を持つ事が示されたが、実際のウイルスを用いた検証実験を行う必要がある。現在、ウイルス標準株の収集と当該ウイルスの感染が確定している患者の臨床検体の収集を計画しており、今後もウイルス検査系の検証作業を続けていく予定である。

2. 今回検討した限りにおいては、各プライマー、プローブ間に交差反応性はなく、特異的に被検ウイルスを検出できると考えている。今後検査系の特異性、正確性を高めていくためには、陽性シグナルが出た場合、増幅産物の遺伝子配列の決定、陽性ウイルスに対する他のプライマー・プローブを使用した検査、などの検証実験を重ねていく必要がある。

E: 結論

培養細胞研究資源を使用した研究の質を高めるためには、簡便・安価に多種類のウイルスを測定する手法を開発し、ヒト培養細胞研究資源のウイルス汚染の実態を把握することが必要である。本研究では、これまでに作製したウイルス検査系の検査対象ウイルス数を増やす事を目的に研究を行い、パラインフルエンザウイルス (PIV) 1 型、2 型、3 型、RS ウイルス、コロナウイルス (OC43, NL63)、メタニューモウイルスの 7 種類のウイルス検出系を作製した。検査系は全てのウイルスに対して 10 copies/reaction の測定感度を持つこと、今回作製したウイルス間相互の交差反応性は無い

ことを確認した。

F: 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Katayama M, Horie S, Ogawa M, Sugimoto Y and Mochizuki M. Diagnosis of bacterial endophthalmitis by broad-range quantitative PCR. *Br J Haematol*. Jul 31, 2010 [Epub ahead of print].
2. Nagasawa M., Ogawa K., Nagata K., Shimizu N. Serum granulysin as a possible biomarker of NK cell neoplasm. *Br J Haematol*. **148**(5):812-814, 2010.
3. Zhang Y, Ohyashiki JH, Shimizu N, Ohyashiki K. Aberrant expression of NK cell receptors in Epstein-Barr virus-positive gammadelta T-cell lymphoproliferative disorders. *Hematology*. **15**(1):43-47, 2010.
4. Kariya Y, Hamatake M, Urano E, Yoshiyama H, Shimizu N, Komano J. Dominant-negative derivative of EBNA1 represses EBNA1-mediated transforming gene expression of Epstein-Barr virus infection independent of rapid loss of viral genome. *Cancer Sci*. **101**(4):876-881, 2010.
5. Iwata S, Wada K, Tobita S, Gotoh K, Ito Y, Demachi-Okamura A, Shimizu N, Nishiyama Y, Kimura H. Quantitative Analysis of Epstein-Barr Virus (EBV)-Related Gene Expression in Patients with Chronic Active EBV Infection. *J Gen Virol*. **91**(Pt1):42-50, 2010.
6. Miyagawa Y., Kiyokawa N., Ochiai N., Imadome K., Horiuchi Y., Onda K., Yajima M., Nakamura H., Katagiri Y., Okita H., Morio T., Shimizu N., Fujimoto J. and Fujiwara S. Ex vivo expanded cord

blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology*. **128**(3):405-419, 2010.

7. Chan KK, Shen L, Au WY, Yuen HF, Wong KY, Guo T, Wong ML, Shimizu N, Tsuchiyama J, Kwong YL, Liang RH, Srivastava G. Interleukin-2 induces NF-kappaB activation through BCL10 and affects its subcellular localization in natural killer lymphoma cells. *J Pathol*. **221**(2):164-74, 2010.

国内学会発表

1. 小川学、杉田直、井上静、望月學、片山未来、渡邊健、清水則夫、森尾友宏 ヘルペスウイルスの関与が疑われるぶどう膜炎に対する眼内液PCR検査の有用性の検討 第114回日本眼科学会 2010年4月 名古屋市
2. 小川学、杉田直、井上静、清水則夫、赤尾信明、望月學 PCR法を用いたアカント・アメーバ角膜炎の補助診断 第21回臨床寄生虫学会 2010年6月 東京
3. 今留謙一、矢島美彩子、川野布由子、市川紗弓、清水則夫、中村浩幸、伊藤守、山本直樹、藤原成悦 EBウイルス関連血球貪食症候群モデルマウスの作製と解析 第58回日本ウイルス学会学術集会 2010年11月 徳島市
4. 今留謙一、矢島美彩子、川野布由子、市川紗弓、清水則夫、中村浩幸、伊藤守、山本直樹、藤原成悦 EBウイルス関連T/NKリンパ増殖性疾患モデルマウスの作製と解析 第7回EBウイルス研究会 2010年7月 札幌市
5. 今留謙一、矢島美彩子、川野布由子、中川温子、新井文子、市川紗弓、森尾友宏、大賀正一、大石勉、清水則夫、山本直樹、藤原成悦: EBウイルス関連T/NKリンパ増殖性疾患モデルマウスの政策と病態発現解析、第20回EBウイルス感染症研究会、東京、2010年3月

6. 満生紀子、遠藤明史、青木由貴、小野敏明、高木正稔、梶原道子、長澤正之、峯岸志津子、落合 央、清水則夫、森尾友宏、水谷修紀：当科で施行した造血幹細胞移植患者における網羅的 PCR 法による経時的ウイルス、第 32 回日本造血細胞移植学会総会、2010 年 2 月、浜松市

国際学会発表

1.Ogawa M, S. Sugita S, Shimizu N, Morio T, Mochizuki M. Use of Human Herpes Virus (HHV) PCR Assays to Detect Viral DNA in Ocular Fluids of Patients with Herpetic Eye Diseases. ARVO 2010, Fort Lauderdale, Florida.

2.Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakagawa A, Kawano F, Ichikawa S, Miura O, Ito M, Shimizu N, Yamamoto N and Fujiwara S. A xenotransplant model of chronic active EB virus infection by use of NOG mice. The 14th Biennial Conference of the International Association for Research on Epstein-Barr Virus & Associated Diseases, Sept 2010, Birmingham, UK.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

マイコプラズマ検査法に関する研究

研究分担者 氏名 原澤 亮

所属 岩手大学 農学部

役職 教授

研究要旨：一般に培養動物細胞の培養には胎児ウシ血清を培地成分として用いるが、その血清成分を介して細胞培養が汚染することはよく知られている。近年、血液中にヘモプラズマと呼ばれる住血マイコプラズマが広く存在することが遺伝子検査により明らかになってきた。本研究では培養液に添加される血清の原料となるウシ血液に存在するヘモプラズマを迅速に検出する方法を開発した。

A. 研究目的

住血マイコプラズマは赤血球寄生性の無細胞壁原核生物の総称で、ヘモプラズマとも呼ばれ、これにはかつてリケッチア目アナプラズマ科のヘモバルトネラ属あるいはエペリスロゾン属に属していた菌種のほか、新たに発見された菌種が含まれる。これら住血マイコプラズマ菌種はいずれも、16S rRNA 遺伝子の相同性、細胞外での増殖、および細胞壁ペプチドグリカンの欠如などの性状からマイコプラズマ属の菌種として認定されたものであるが、試験管内での人工培養が成功しないため性状解析ならびに分類学的な検討が遅れている。本研究では動物細胞培養にウシ血清が用いられることに着目し、とくにウシを宿主とするヘモプラズマに限定してその検索方法を開発することを目的とした。ウシには *Mycoplasma wenyonii* および '*Candidatus Mycoplasma*

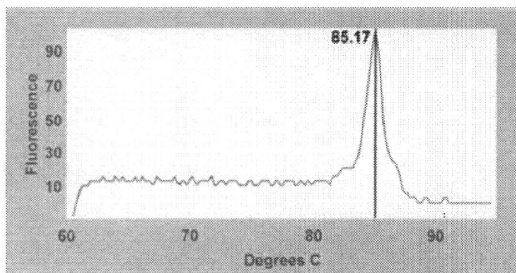
haemobos' の2菌種が感染することが知られている。そこで、これらを迅速に検出し、両者を鑑別する方法を確立することとした。

B. 研究方法

宮城県内で飼育されている乳牛 109 頭から採取した全血（EDTA 添加）を被検サンプルとして、ヘモプラズマの検出法を検討した。前述の2種のヘモプラズマ菌種に共通のプライマー配列（forward 5'-ATATTCCTACGGGAAGCAGC-3' および reverse 5'-ACCGCAGCTGCTGGCACATA-3'）を設計し、スマートサイクラー（Cepheid 社）を用いてリアルタイム PCR を行い、最後に 60°C から 95°C まで毎秒 0.2°C ずつ昇温させて、PCR 産物の熱融解温度（*T_m* 値）を測定した。

C. 研究結果

今回設計したプライマー配列を用いてリアルタイム PCR を行うことにより、ウシに感染する2種類のヘモプラズマを迅速に検出できることが判明した。また、 T_m 値は *M. wenyonii* が $82.04 \pm 0.27^\circ\text{C}$ 、‘*Candidatus M. haemobos*’ が $86.98 \pm 0.12^\circ\text{C}$ であることが明らかになり、これらの数値を基準にして両菌種を鑑別することが可能となった。



ウシ由来住血マイコプラズマ（‘*Candidatus M. haemobos*’）の熱融解曲線の例

D. 考察

ウシのヘモプラズマはこれまで血液塗抹標本での菌体の証明により検出されてきたが、Howell-Jolly 小体との鑑別が困難（いずれも貧血を伴い、脾摘後に多発し、DNA を含有）であることから、本法は有効な試験法と考えられた。細胞培養におけるヘモプラズマの汚染についてはこれまでに調査がなく不明であるが、血液系の培養細胞について調べる意義はあろう。

E. 結論

リアルタイム PCR を用い、あわせて熱融解温度を測定することによりウシの血液中に

存在するヘモプラズマ菌種の鑑別が行えることが明らかになった。

F. 健康危険情報

ウシのヘモプラズマについては報告がないが、ヒツジおよびブタのヘモプラズマが人に感染することが海外で報告されている。

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishizawa, I., Sato, M., Fujihara, M., Sato, S., and Harasawa, R. (2010) Differential detection of hemotropic *Mycoplasma* species in cattle by melting curve analysis of PCR products. *J. Vet. Med. Sci.* 72: 77-79.

Fujihara, M., Ishida N., Asano K., Matsuda K., Nomura, N., Nishida, Y., and Harasawa R. (2010) Variation of genes encoding GGPL syntheses among *Mycoplasma fermentans* *J. Vet. Med. Sci.* 72: 805-808.

Obara, H., and Harasawa, R. (2010) Nitric oxide cause anoikis through attenuation of E-cadherin and activation of caspase-3 in human gastric carcinoma AZ-521 cells infected with *Mycoplasma hyorhinis*. *J. Vet. Med. Sci.* 72: 869-874.

Gianguaspero M., Orusa R., Nicholas R. A. J., Harasawa R., Ayling R. D., Churchward C. P., Whatmore A., Bradley D., Robetto

S., Sacchi L., Domenis L. (2010) Characterization of mycoplasma isolated from an ibex (*Capra ibex*) suffering from keratoconjunctivitis in northern Italy. *J. Wildlife Dis.* 46 1070–078.

Watanabe, Y., Fujihara, M., Obara, H., Matsubara, K., Yamauchi, K., and Harasawa, R. (2010) Novel hemoplasma species detected in free-ranging sika deer (*Cervus nippon*). *J. Vet. Med. Sci.* 72: 1527–1530.

2. 学会発表

Obara, H., Fujihara, M., and Harasawa R. (2010) *Mycoplasma hyorhinis* infection induces NO-mediated anoikis in AZ-521 cells. 18th meeting of the International Organization for Mycoplasmaology, July 11–16, Chianciano, Italy.

Kozai, M., Yamashita, T., Taira, H., and Harasawa, R. (2010) Inhibition of human melanoma cell growth by recombinant argininedeminase expressed in *Escherichia coli*. 18th meeting of the International Organization for Mycoplasmaology, July 11–16, Chianciano, Italy.

Nishizawa, I., Sato, M., Fujihara, M., Sato, S., and Harasawa, R. (2010) Bovine hemoplasmas: Differential detection by

real-time PCR with melting curve analysis. 18th meeting of the International Organization for Mycoplasmaology, July 11–16, Chianciano, Italy.

Kawahito, Y., Ichinose, S., Sano, H., Tsubouchi, Y., Kohno, M., Yoshikawa, T., Tokunaga, D., Hojo, T., Harasawa, R., Nakano, T., and Matsuda, K. (2010) *Mycoplasma fermentans* glycolipid-antigen as a biomarker for rheumatoid arthritis. 18th meeting of the International Organization for Mycoplasmaology, July 11–16, Chianciano, Italy.

Matsuda, K., Miura, H., Sasamori, E., Nomura, N., Miyachi, A., Shingu, Y., Nishida, Y., Harasawa, R., Tomiyama, T., Matsuda, S., and Narita, M. (2010) Early and specific diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae*-infection by using chemically-synthesized *Mycoplasma pneumoniae* lipid-antigen ELISA. 18th meeting of the International Organization for Mycoplasmaology, July 11–16, Chianciano, Italy.

Giangaspero, M., Nicholas, R. A. J., Ayling, R. D., Miroslav, H., Osawa, T., Orusa, R., Harasawa, R. (2010) Seroepidemiological survey for *Mycoplasma ovipneumoniae* in sheep from northern Japan. 18th meeting of

the International Organization for Mycoplasmaology, July 11-16, Chianciano, Italy.

Gianguaspero, M., Orusa, R., Nicholas, R.A.J., Harasawa, R., Ayling, R.D., Churchward, C.P., Whatmore, A., Bradley, D., Robetto, S., Sacchi, L., and Domenis, L. (2010) Characterization of mycoplasma isolates from wild and domestic ruminants in northern Italy. 18th meeting of the International Organization for Mycoplasmaology, July 11-16, Chianciano, Italy.

Gianguaspero, M., Harasawa, R., and Orusa, R. (2010) Genotypes of Border disease virus species revealed by analyzing the 5'-untranslated region. BIT's 1st World Congress of Virus and Infections, July 31-August 3, 2010, Busan, South Korea

Gianguaspero, M., and Harasawa, R. (2010) Genus *Pestivirus* taxonomy based on palindromic nucleotide substitutions in the 5'-UTR. BIT's 1st World Congress of Virus and Infections, July 31-August 3, 2010, Busan, South Korea

Matsuda, K., Koizumi, A., Fukuda, K., Dohi, H., Harasawa, R., Saito, A., and Nishida, Y. (2010) Chemical structures, syntheses and applications of *Mycoplasma pneumoniae*-specific β -glycolipid

antigens. 25th International Carbohydrate Symposium, August 1-6, 2010, Tokyo, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Dirks WG, MacLeod RA, Nakamura Y, <u>Kohara A</u> , Reid Y, Milch H, Drexler HG, Mizusawa H.	Cell line cross-contamination initiative: an interactive reference database of STR profiles covering common cancer cell lines.	International Journal of Cancer	126(1)	303-304	2010
Capes-Davis A, Theodosopoulos G, Atkin I, Drexler HG, <u>Kohara A</u> , Macleod RA, Masters JR, Nakamura Y, Reid YA, Reddel RR, Freshney RI	Check your cultures! A list of cross-contaminated or misidentified cell lines.	International Journal of Cancer	127(1)	1-8	2010
American Type Culture Collection Standards Development Organization Workgroup ASN-0002.	Cell line misidentification: the beginning of the end.	Nature Reviews Cancer	10(6)	441-448	2010
Barallon R, Bauer SR, Butler J, Capes-Davis A, Dirks WG, Elmore E, Furtado M, Kline MC, <u>Kohara A</u> , Los GV, Macleod RA, Masters JR, Nardone M, Nardone RM, Nims RW, Price PJ, Reid YA, Shewale J, Sykes G, Steuer AF, Storts DR, Thomson J, Taraporewala Z, Alston-Roberts C, Kerrigan L.	Recommendation of short tandem repeat profiling for authenticating human cell lines, stem cells, and tissues.	In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal	46(9)	727-732	2010
Mimura S, Kimura N, Hirata M, Tateyama D, Hayashida M, Umezawa A, <u>Kohara A</u> , Nikawa H, Okamoto T, Furue MK.	Growth factor-defined culture medium for human mesenchymal stem cells.	International Journal of Developmental Biology			in press
Inamura M., Kawabata K., Takayama K., Tashiro K., Sakurai F., Katayama K., Toyoda M., Akutsu H., Miyagawa Y., Okita H., Kiyokawa N., Umezawa A., Hayakawa T., <u>Furue MK.</u> , Mizuguchi H.	Efficient generation of hepatoblasts from human ES cells and iPS cells by transient overexpression of homeobox gene HEX.	Molecular Therapy	Feb;19(2)	400-7	2010
Yohei Hayashi, Techuan Chan, Masaki Warashina, Masakazu Fukuda, Takashi Ariizumi I, Koji Okabayashi, Naoya Takayama, Makoto Otsu, Koji Eto, <u>Miho Kusuda Furue</u> , Tatsuo Michiue, Kiyoshi Ohnuma, Hiromitsu Nakauchi, Makoto Asashima.	Reduction of N-glycolylneuraminic Acid in Human in Induced Pluripotent Stem Cells Generated or cultured under Feeder- and Serum-free Defined Conditions.	Plos One	Nov23;5(11)	e14099	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tashiro K., Kawabata K., Inamura M., Takayama K., Furukawa N., Sakurai F., Katayama K., Hayakawa H., <u>Furue-Kusuda M.</u> , Mizuguchi H.	Adenovirus vector-mediated efficient transduction into human embryonic and induced pluripotent stem cells.	Cellular Reprogramming	Oct;12(5)	501-7	2010
Yuko Aihara, Yohei Hayashi, Mitsui Hirata, Nobutaka Aiki, Shinsuke Shibata, Narihito Nagoshi, Mio Nakanishi, Kiyoshi Ohnuma, Masaki Warashina, Tatsuo Michiue, Hideho Uchiyama, Hideyuki Okano, Makoto Asashima and <u>Miho Kusuda Furue.</u>	Induction of neural crest cells from mouse embryonic stem cells in a serum-free monolayer culture.	International Journal of Developmental Biology	54	1287 - 1294	2010
Jie Na, <u>Miho K. Furue</u> and Peter W. Andrews.	Inhibition of ERK1/2 Prevents Neural and Mesendodermal Differentiation and Promotes Human Embryonic Stem Cell Self-renewal.	Stem Cell Research	5(2)	157-69	2010
<u>Miho Kusuda Furue</u> , Daiki Tateyama, Masaki Kinehara, Jie Na, Tetsuji Okamoto, J. Denry Sato.	Advantages and difficulties in culturing human pluripotent stem cells in growth factor-defined serum-free medium.	In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal	46	573-576	2010
S. Mimura, N. Kimura, M. Hirata, D. Tateyama, M. Hayashida, A. Umezawa, A. Kohara, H. Nikawa, T. Okamoto, <u>M. Kusuda Furue.</u>	Growth Factor-Defined Culture Medium for Human Mesenchymal Stem Cells.	International Journal of Developmental Biology	Epub ahead of print		2011
Sugita S, <u>Shimizu N.</u> , Watanabe K, Katayama M, Horie S, Ogawa M, Sugimoto Y and Mochizuki M.	Diagnosis of bacterial endophthalmitis by broad-range quantitative PCR.	British Journal of Haematology	95(3)	345-9	2010
Nagasawa M., Ogawa K., Nagata K., <u>Shimizu N.</u>	Serum granulysin as a possible biomarker of NK cell neoplasm.	British Journal of Haematology	148(5)	812-814	2010
Zhang Y, Ohyashiki JH, <u>Shimizu N.</u> , Ohyashiki K.	Aberrant expression of NK cell receptors in Epstein-Barr virus-positive gammadelta T-cell lymphoproliferative disorders.	Hematology	15(1)	43-47	2010
Kariya Y, Hamatake M, Urano E, Yoshiyama H, <u>Shimizu N.</u> , Komano J.	Dominant-negative derivative of EBNA1 represses EBNA1-mediated transforming gene expression of Epstein-Barr virus infection independent of rapid loss of viral genome.	Cancer Science	101(4)	876-881	2010

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Iwata S, Wada K, Tobita S, Gotoh K, Ito Y, Demachi-Okamura A, <u>Shimizu N</u> , Nishiyama Y, Kimura H.	Quantitative Analysis of Epstein-Barr Virus (EBV)-Related Gene Expression in Patients with Chronic Active EBV Infection.	Journal of General Virology	91(Pt1)	42-50	2010
Chan KK, Shen L, Au WY, Yuen HF, Wong KY, Guo T, Wong ML, <u>Shimizu N</u> , Tsuchiyama J, Kwong YL, Liang RH, Srivastava G.	Interleukin-2 induces NF-kappaB activation through BCL10 and affects its subcellular localization in natural killer lymphoma cells.	The Journal of Pathology	221(2)	164-174	2010
.Miyagawa Y., Kiyokawa N., Ochiai N., Imadome K., Horiuchi Y., Onda K., Yajima M., Nakamura H., Katagiri Y., Okita H., Morio T., <u>Shimizu N.</u> , Fujimoto J. and Fujiwara S.	Ex vivo expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin.	Immunology	128(3)	405-419	2010
Nishizawa, I., Sato, M., Fujihara, M., Sato, S., and <u>Harasawa, R.</u>	Differential detection of hemotropic <i>Mycoplasma</i> species in cattle by melting curve analysis of PCR products.	The Journal of Veterinary Medical Science	72	77-79	2010
Fujihara, M., Ishida N., Asano K., Matsuda K., Nomura, N., Nishida, Y., and <u>Harasawa R.</u>	Variation of genes encoding GGPL syntheses among <i>Mycoplasma fermentans</i> J.	The Journal of Veterinary Medical Science	72	805-808	2010
Obara, H., and <u>Harasawa, R.</u>	Nitric oxide cause anoikis through attenuation of E-cadherin and activation of caspase-3 in human gastric carcinoma AZ-521 cells infected with <i>Mycoplasma hyorhinis</i> .	The Journal of Veterinary Medical Science	72	869-874	2010
Giangaspero M., Orusa R., Nicholas R. A. J., <u>Harasawa R.</u> , Ayling R.D., Churchward C. P., Whatmore A., Bradley D., Robetto S., Sacchi L., Domenis L.	Characterization of mycoplasma isolated from an ibex (<i>Capra ibex</i>) suffering from keratoconjunctivitis in northern Italy.	Journal of Wildlife Diseases	46	1070-078	2010
Watanabe, Y., Fujihara, M., Obara, H., Matsubara, K., Yamauchi, K., and <u>Harasawa, R.</u>	Novel hemoplasma species detected in free-ranging sika deer (<i>Cervus nippon</i>)	The Journal of Veterinary Medical Science	72	1527-1530	2010

Recommendation of short tandem repeat profiling for authenticating human cell lines, stem cells, and tissues

Rita Barallon · Steven R. Bauer · John Butler · Amanda Capes-Davis · Wilhelm G. Dirks · Eugene Elmore · Manohar Furtado · Margaret C. Kline · Arihiro Kohara · Georgyi V. Los · Roderick A. F. MacLeod · John R. W. Masters · Mark Nardone · Roland M. Nardone · Raymond W. Nims · Paul J. Price · Yvonne A. Reid · Jaiprakash Shewale · Gregory Sykes · Anton F. Steuer · Douglas R. Storts · Jim Thomson · Zenobia Taraporewala · Christine Alston-Roberts · Liz Kerrigan

Received: 30 March 2010 / Accepted: 16 June 2010 / Published online: 8 July 2010 / Editor: J. Denry Sato
© The Author(s) 2010. This article is published with open access at Springerlink.com

Abstract Cell misidentification and cross-contamination have plagued biomedical research for as long as cells have been employed as research tools. Examples of misidentified cell lines continue to surface to this day. Efforts to eradicate the problem by raising awareness of the issue and by asking scientists voluntarily to take appropriate actions have not been successful. Unambiguous cell authentication is an

essential step in the scientific process and should be an inherent consideration during peer review of papers submitted for publication or during review of grants submitted for funding. In order to facilitate proper identity testing, accurate, reliable, inexpensive, and standardized methods for authentication of cells and cell lines must be made available. To this end, an international team of

R. Barallon · J. Thomson
LGC,
Queens Road,
Teddington, Middlesex TW11 0LY, UK

S. R. Bauer
Division of Cellular and Gene Therapies, Office of Cellular,
Tissue and Gene Therapies, FDA/Center for Biologics Evaluation
& Research, NIH Bldg 29B 2NN10 HFM-740,
8800 Rockville Pike,
Bethesda, MD 20892, USA

J. Butler · M. C. Kline
Biochemical Science Division (831),
Advanced Chemical Science Laboratory (227),
National Institutes of Standards and Technology, Room B226,
100 Bureau Drive, Stop 8312,
Gaithersburg, MD 20899-8312, USA

A. Capes-Davis
CellBank Australia, Children's Medical Research Institute,
Westmead, New South Wales, Australia

W. G. Dirks · R. A. F. MacLeod
DSMZ—German Collection of Microorganisms and Cell Cultures,
Inhoffenstr. 7b,
38124 Braunschweig, Germany

E. Elmore (✉)
Department of Radiation Oncology, University of California,
Medical Sciences I,
B146D,
Irvine, CA 92697, USA
e-mail: eelmore@uci.edu

M. Furtado · J. Shewale
Applied Markets/Genetic Systems Life Technologies,
850 Lincoln Centre Drive,
Foster City, CA 94404, USA

A. Kohara
Department Biomedical Resources, Laboratory of Cell Cultures,
National Institute of Biomedical Innovation,
7-6-8 Saito-Asagi,
Ibaraki, Osaka 567-0085, Japan

G. V. Los
Neuroscience Training Program,
University of Wisconsin-Madison,
1300 University Av.,
Madison WI53706, USA

J. R. W. Masters
Institute of Urology, University College London,
67 Riding House Street,
London W1W 7EJ, UK

scientists is, at this time, preparing a consensus standard on the authentication of human cells using short tandem repeat (STR) profiling. This standard, which will be submitted for review and approval as an American National Standard by the American National Standards Institute, will provide investigators guidance on the use of STR profiling for authenticating human cell lines. Such guidance will include methodological detail on the preparation of the DNA sample, the appropriate numbers and types of loci to be evaluated, and the interpretation and quality control of the results. Associated with the standard itself will be the establishment and maintenance of a public STR profile database under the auspices of the National Center for Biotechnology Information. The consensus standard is anticipated to be adopted by granting agencies and scientific journals as appropriate methodology for authenticating human cell lines, stem cells, and tissues.

Keywords Cell authentication · STR profiling · Consensus standard · Quality control

Introduction

Animal and human primary cell cultures, continuous (immortalized) cell lines, and tissues are of overwhelming importance to the biopharmaceutical industry and to biomedical research as reagents, therapeutic modalities, and as proxy materials for the study of more complex physiological systems. Cell cultures have, from the beginning, been at risk for misidentification due to labeling errors, incorrect classification by pathologists, and cross-contamination with other cell types. Continuous cell lines are potentially jeopardized due to the extended time these are in culture and the frequent manipulations involved in the course of feeding and subculturing.

Human stem cell preparations which are propagated in the presence of non-human feeder cell layers are at risk of cross-contamination with the feeder cells. Tumor cells propagated by xenografting onto host animals are at risk of cross-contamination with the host cells.

We know the risks involved in establishing and maintaining cell cultures. We know that periodic identity testing (authentication) is the only way to prove that the cell we are studying is the cell that we believe it to be, and not a contaminating tumor cell line such as HeLa. Why then are many investigators blindly assuming that they are using correctly identified cells? Recent publications appear to indicate that the problem of cell misidentification is not going away. For instance, Berglund et al. (2008) evaluated the p53 status of 1,211 cell lines published between 1989 and 2007 and found discrepancies in the p53 status for 23% of the cell lines. Schweppe et al. (2008) evaluated 40 human thyroid cancer cell lines and found that only 23 of these actually had unique genetic profiles, as determined using short tandem repeat (STR) profiling and single nucleotide polymorphism analysis. Certain of the presumed thyroid cancer cell lines were found to have profiles matching colon cancer or melanoma cells. Another recent revelation was that of Boonstra et al. (2010) indicating that three widely used esophageal cancer cell lines are, in fact, derived from other tumor types. Dittmar et al. (2010) have reported two new cases of misidentification of supposed human cells. Their work clearly demonstrates that phenotypic evaluation alone cannot provide adequate assurance of the authenticity of a cell line. More extensive lists of misidentified cells are available from a number of sources (e.g., ATCC SDO Workgroup ASN-0002 2010; Capes-Davis et al. 2010).

Within the highly regulated biopharmaceutical industry, cell lines used as production substrates must be characterized for identity through phenotypic analysis and confirmation of

M. Nardone
Bio-Trac Program, The Foundation for the Advanced Education in
the Sciences at the National Institutes of Health,
Bethesda, MD 20892, USA

R. M. Nardone
Catholic University of America, Cell and Molecular Biology,
620 Michigan Ave NE,
Washington, DC 20064, USA

R. W. Nims
RMC Pharmaceutical Solutions, Inc.,
2150 Miller Drive, Suite A,
Longmont, CO 80501, USA

P. J. Price
D-Finitive Cell Technology, Room B-33,
1023 Wappoo Rd,
Charleston, SC 29407, USA

A. F. Steuer
BioReliance,
14920 Broschart Road,
Rockville, MD 20850, USA

D. R. Storts
Nucleic Acid Technologies, Promega Corporation,
2800 Woods Hollow Road,
Madison, WI 53711, USA

Z. Taraporewala
Division of Cellular and Gene Therapies, Office of Cellular,
Tissue, and Gene Therapies,
FDA/Center for Biologics Evaluation and Research,
1401 Rockville Pike, Room 200N,
Rockville, MD 20852, USA

Y. A. Reid · G. Sykes · C. Alston-Roberts · L. Kerrigan
American Type Culture Collection,
10801 University Blvd.,
Manassas, VA 20110, USA

animal species of origin (US FDA 1993). This, together with implementation of current good manufacturing practices, is believed to have contributed to the relatively low frequency of cell line misidentification reported in this industry (Nims and Herbstritt 2005).

Remediation of the problem of cell line misidentification within the biomedical research community may eventually need to be driven by requirements for authentication from granting agencies and journal editors. An international group of scientists is now preparing a consensus standard which will provide investigators with guidance on the appropriate methodology for authenticating human cells. In this article, we describe the rationale for and the process involved in preparing this standard.

Efforts to Remediate the Problem of Cell Misidentification

The earliest efforts toward tackling the problem of cell misidentification centered on disclosure of the issue through conference presentations and publications. Gartler (e.g., Gartler 1967) and Nelson-Rees (e.g., Nelson-Rees et al. 1974) were among the first and most vocal of those attempting to convince the scientific community of the seriousness of the issue. They hoped that such disclosures would motivate scientists to voluntarily take actions to remediate the problem.

More recently, Roland Nardone championed a series of efforts intended to reemphasize the seriousness of the cell misidentification problem and take any required steps to begin remediating the various causes for the continuing issue. His efforts began with the authoring of a white paper, entitled "Eradication of Cross-Contaminated Cell Lines: A Call for Action" (Nardone 2007). This paper presented recommendations for strict compliance measures in addition to continuing efforts to educate scientists. Nardone believed the time had come for granting agencies to demand cell line authentication as a condition for the receipt of funds and for journals to add a similar requirement to their instructions for authors for manuscripts submitted for publication.

As part of his efforts to convince granting agencies of the need for their participation in his overall remediation strategy, Nardone and a group of prominent cell scientists composed and signed an open letter to Michael O. Leavitt, Secretary of Health and Human Resources (Nardone et al. 2007), beseeching the NIH to take appropriate actions. On November 28, 2007, the NIH published an addition to their Guidelines for Research—Notice Regarding Authentication of Cultured Cell Lines (National Institutes of Health 2007) calling for diligence and more careful peer review.

Communications between Nardone (and others) and journal editors have achieved the desired result as slowly

and surely, journals are beginning to add the requirement for cell authentication to their instructions for authors (e.g., *Cell Biochemistry and Biophysics*, *In Vitro Cellular & Developmental Biology—Animal*, *International Journal of Cancer*, and the journals of the American Association for Cancer Research).

Attempts to educate scientists in general of the need for cell authentication must go beyond simply raising the level of awareness of the problem. In his white paper, Nardone also stressed the need for training in cell authentication to be added to conference agendas. He recommended that societies sponsor conferences, workshops, and/or training activities to facilitate the adoption of cell line authentication standards (Nardone 2007).

As the requirement for cell authentication is adopted by granting agencies and scientific journals, the need for standardized methods and expectations regarding authentication itself to be defined becomes more critical. Recognizing this, an effort to prepare a consensus standard on authentication of human cells was initiated.

The Concept of the Consensus Standard

The idea of the consensus standard is to allow a greater input from the overall international biomedical community into standards. The derivation of a standard through the consensus process improves the chance of universal voluntary acceptance. In turn, that acceptance will foster reproducibility and comparability of research employing human cells. Such a consensus-driven standard, if universally adopted, should ultimately lead to a marked decrease in the misidentification of human cells used by the biomedical community.

The ATCC® Standards Development Organization

The mission of the ATCC® Standards Development Organization (SDO) is to develop best practices (standards) for use in the life science industry and to promote their global use, using a consensus-driven process that balances the viewpoints of the stakeholder community. Membership is free and open to all stakeholders in the biomedical community, including those involved in the development, production, application, and regulation of life science products. Stakeholders include, but are not limited to, members from academia, government, regulatory, and industry. All members are participants in the consensus review, comment, and voting process.

In 2007, the SDO became the first biological resource organization to become an American National Standards Institute (ANSI)-accredited standards development organi-

zation. ANSI accreditation ensures that procedures used by standards developers meet requirements for openness, balance, consensus, and due process.

The standard development process employed by the ATCC® SDO is shown in Fig. 1.

ATCC SDO Workgroup ASN-0002

ATCC® SDO workgroup ASN-0002 “Development of a consensus standard for the authentication of human cells: standardization of STR profiling” was formally assembled in early 2009 as a result of a proposal submitted in 2008 by John Masters and Roland Nardone. The workgroup constitutes an international group of concerned and experienced scientists. Chaired by Masters, the workgroup includes individuals with relevant and current experience in DNA profiling technologies, as well as “stakeholders” or representatives from major cell repositories, industry, academia, and government agencies.

Preparation of the Standard. Working under the auspices of the ATCC SDO, the ASN-0002 workgroup has met monthly since early 2009. The overall effort was divided between two subgroups which have met independently at monthly or more frequent intervals.

The first subgroup is charged with drafting the introduction to the Standard, defining what is meant by “human cell line authentication,” describing the historical aspects, from early discovery of cell line misidentification through to the present efforts encouraging remediation of the problem. The subgroup also is delineating the causes of cell line misidentification, surveying the existing technologies for cell line authentication, and providing the rationale for selection of STR profiling for the Standard. The subgroup is chaired by Raymond Nims.

The second subgroup, chaired by Yvonne Reid, is fleshing out the procedural details of the general protocol to be recommended for STR profiling. This subgroup is also responsible for determining the format and structure of an associated public database of STR profiles of

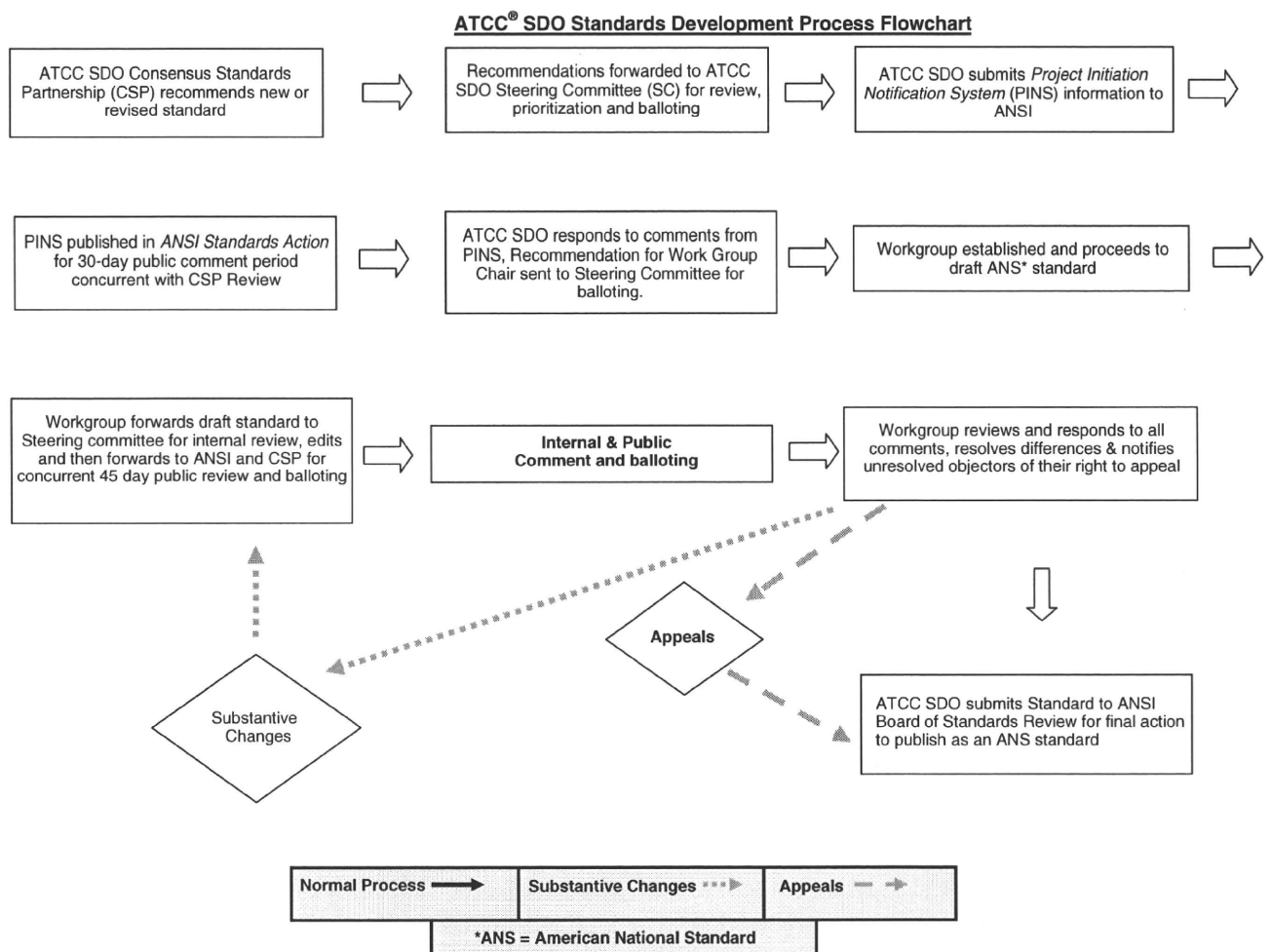


Figure 1. ATCC SDO standards development process flowchart.