

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

## 細胞検査のための染色体解析技術の確立

分担研究者: 郷 正博

(公財) 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター 細胞療法開発グループ

### 研究要旨

移植細胞の迅速な染色体の検査は、移植細胞の腫瘍能獲得評価のために必須の手技である。当該年度では、染色体異常の検査は素早く実施できる(2-3日)検査技術の開発を目的としてmBAND法の解析と改良を実施した。その結果 従来 mBAND法でも評価が難しいとされていたCNVの解析もprobeからのシグナル波長の解析である程度評価可能となることが判明した。

### 【研究目的】

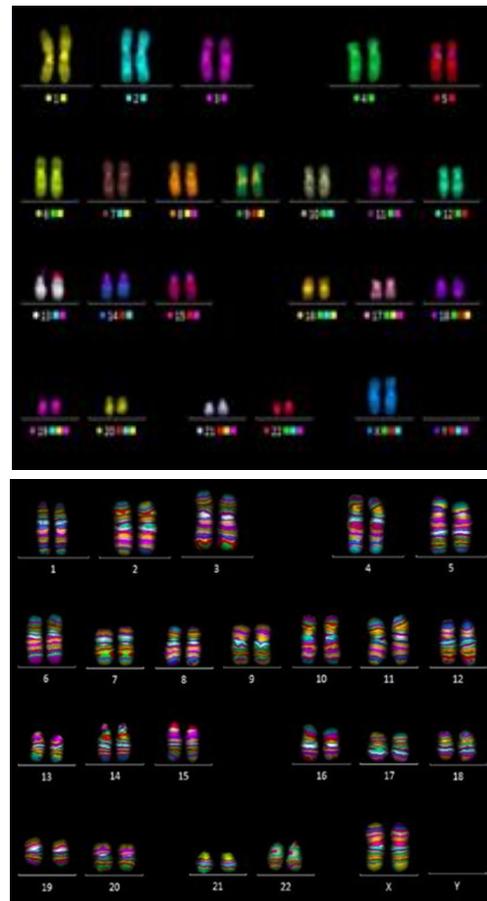
細胞の安全性評価の観点から細胞調整段階、移植直前、凍結前後の細胞の染色体解析が不可欠であり、そのための迅速かつ簡便な染色体検査法の開発が必要である。当該年度では、染色体異常の検証を素早く実施可能とする(2-3日)、染色体解析技術の開発を目的とした。

### 【研究方法】

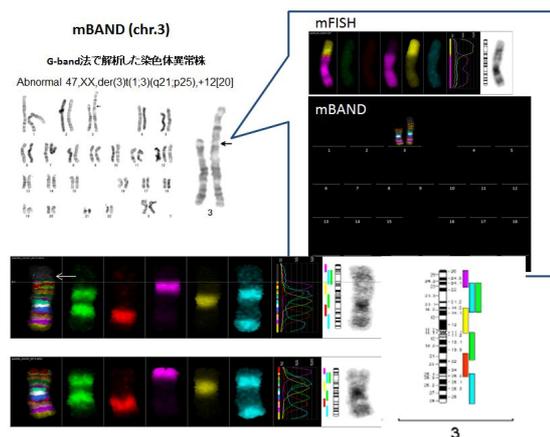
細胞検査技術開発として、当該年度ではm-FISH法、m-BAND法とりわけmBAND法のsignal解析を中心に実施した。細胞は、ES細胞(KhES-1株)を用いて評価した。

### 【結果】

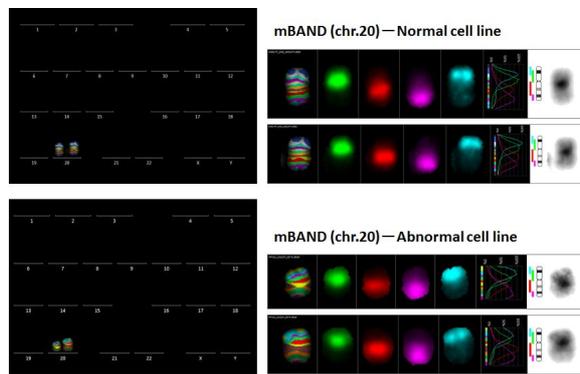
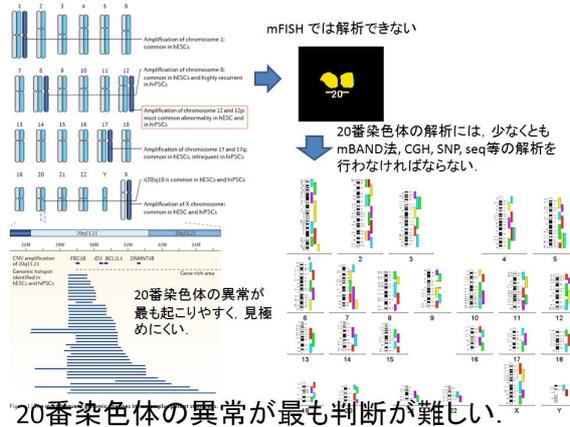
m-FISH解析の結果、各クロモソーム別の染色が確認でき、正常細胞株である事がわかった。また、m-BAND解析を実施し、KhES-1細胞の染色体は、正常であることを確認した。



hKES-1のFISH 上段、mBAND  
下段の検査 normal karyotype

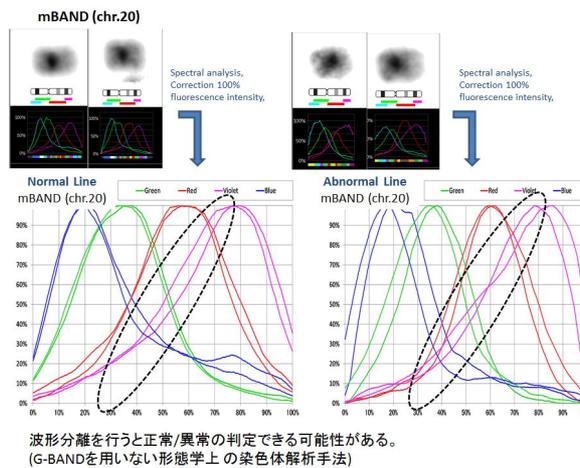


M-FISH,mBANDでG-BANDを用いない判定は可能である。



一見、正常/異常とも同じように形態学的に判断されてしまう。

Chr20 の解析で CNV などの変異を見つけにくい。



さらに probe design など解析が難しいとされる Chr 20 q11.21-q11.22 領域の CNV を mBAND 法で検出できるか検討したが、probe からのシグナル波長を解析すれば、

この領域でも CNV を検出できる可能性が示唆された。Quantitative な評価がどの程度可能か今後の検討課題である。

【考察】

本年度は、迅速に染色体の構造異常や遺伝子異常を検出できるmFISH, mBANDの染色体検査技術を確立した。今後G-BAND法やcustom CGH array等の他の染色体解

析検査と組み合わせて、移植細胞のgene stabilityや造腫瘍性に関する評価を総合的に評価・判断できる検査系の構築する予定である。