

委託者

STEMCELL 株式会社

受託者

タカラバイオ株式会社

被験検体

細胞名	受領日
QC-AC-5 P6	2018年12月19日

陽性検体

細胞名	備考
骨髄由来間葉系幹細胞	タカラバイオ保有細胞

骨髄由来間葉系幹細胞 (Rooster Bio/Cat.MSC-001/Lot,00177) を1継代で拡大培養し凍結保存したもの。

コロニー形成試験

陽性検体及び被験検体を解凍後、250 cells/well 及び 500 cells/well の2条件、n=2 で6wellプレートに播種した。14日間培養後コロニーを染色し、画像解析を行った。

脂肪細胞分化誘導試験

播種後3日目で細胞密度が80-100%に達したことを検鏡により確認した。細胞密度確認後、2ウェル分 (N=2) を誘導群として脂肪細胞分化誘導培地に置換した。1ウェル分 (N=1) は非誘導群として非誘導培地に置換した。培地の置換は3日おきに行い、14日間培養した。誘導培養期間終了後、Oil Red O Stain Kit (For Fat) で、細胞内に蓄積された脂肪滴の染色を行った。被験検体および陽性検体の誘導群において、細胞内に赤色に染色された脂肪滴が確認された。

FCM 解析

Flow Cytometer を用いてそれぞれの抗体染色による蛍光を測定し、細胞表面マーカーの陽性率を評価した。

(補足) 解凍時の細胞数及び生存率

細胞は試験の必要細胞数で検体を用意し提供する。そのため、数量は治療用細胞と違う。

作業報告書

細胞品質管理試験

<コロニー形成試験（非 GMP/GLP）>

	所属	氏名	署名または押印	日付
作成者	タカラバイオ株式会社 CDMセンター			2019.3.19
受託責任者	タカラバイオ株式会社 CDMセンター			2019.3.19

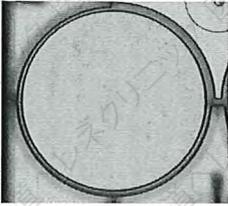
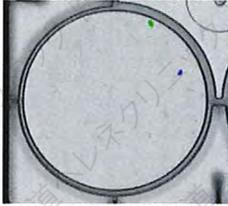
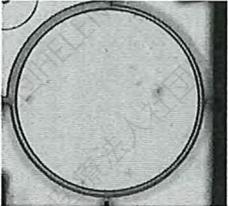
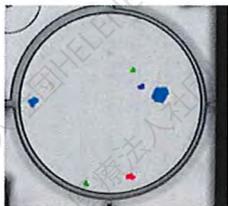
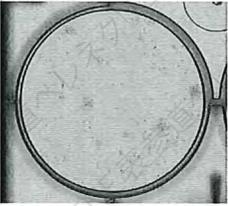
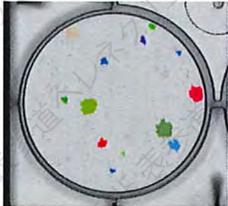
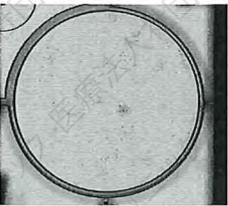
条件	ウェル	実際の画像	コロニー判定画像
被験検体 250 cells 播種	ウェル 1		
	ウェル 2		
被験検体 500 cells 播種	ウェル 1		
	ウェル 2		

図 2. 被験検体の解析画像

作業報告書

細胞品質試験

〈分化誘導試験（非 GMP/GLP）〉

	所属	氏名	署名または押印	日付
作成者	タカラバイオ株式会社 CDM センター			2019.3.19
受託責任者	タカラバイオ株式会社 CDM センター			2019.3.19

8. 添付データ

表 1. 解凍時の細胞数及び生存率 (n=2 の平均値)

	細胞数(cells)	生存率(%)
陽性検体	9.95×10^5	93
被験検体	1.06×10^6	95

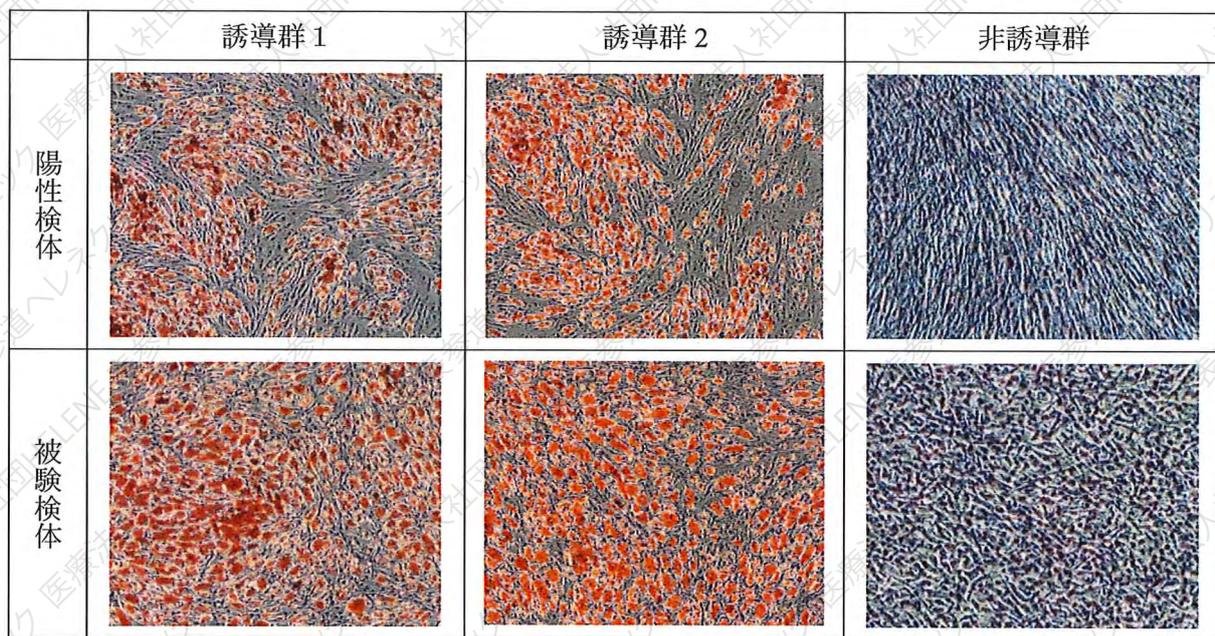


図 1 顕微鏡観察結果（脂肪細胞分化誘導試験）

作業報告書

細胞品質管理試験

<FCM 解析 (非 GMP/GLP)>

	所属	氏名	署名または押印	日付
作成者	タカラバイオ株式会社 CDM センター			2019.3.19
受託責任者	タカラバイオ株式会社 CDM センター			2019.3.19

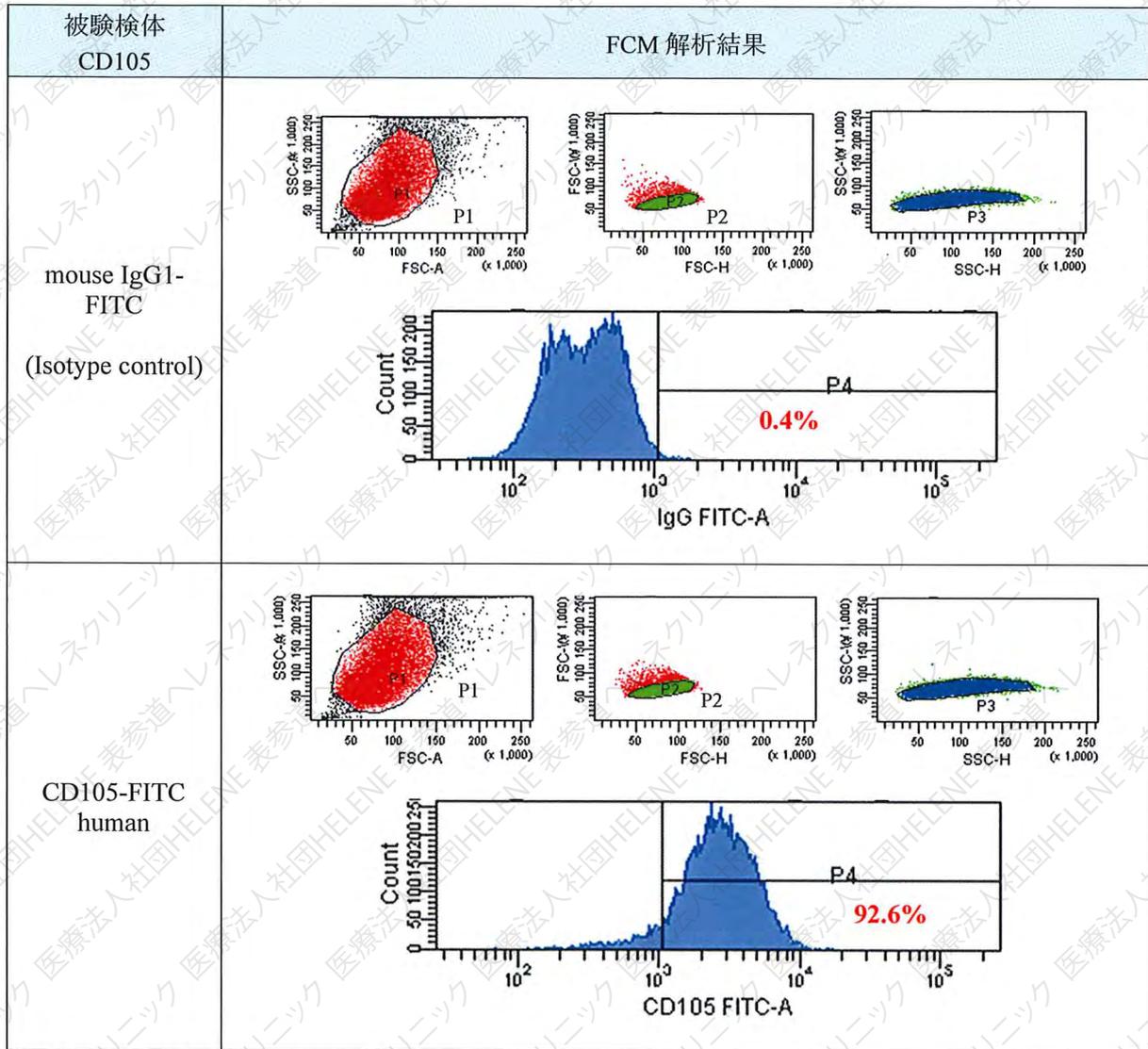


図 2-1. 被験検体の CD105 陽性率

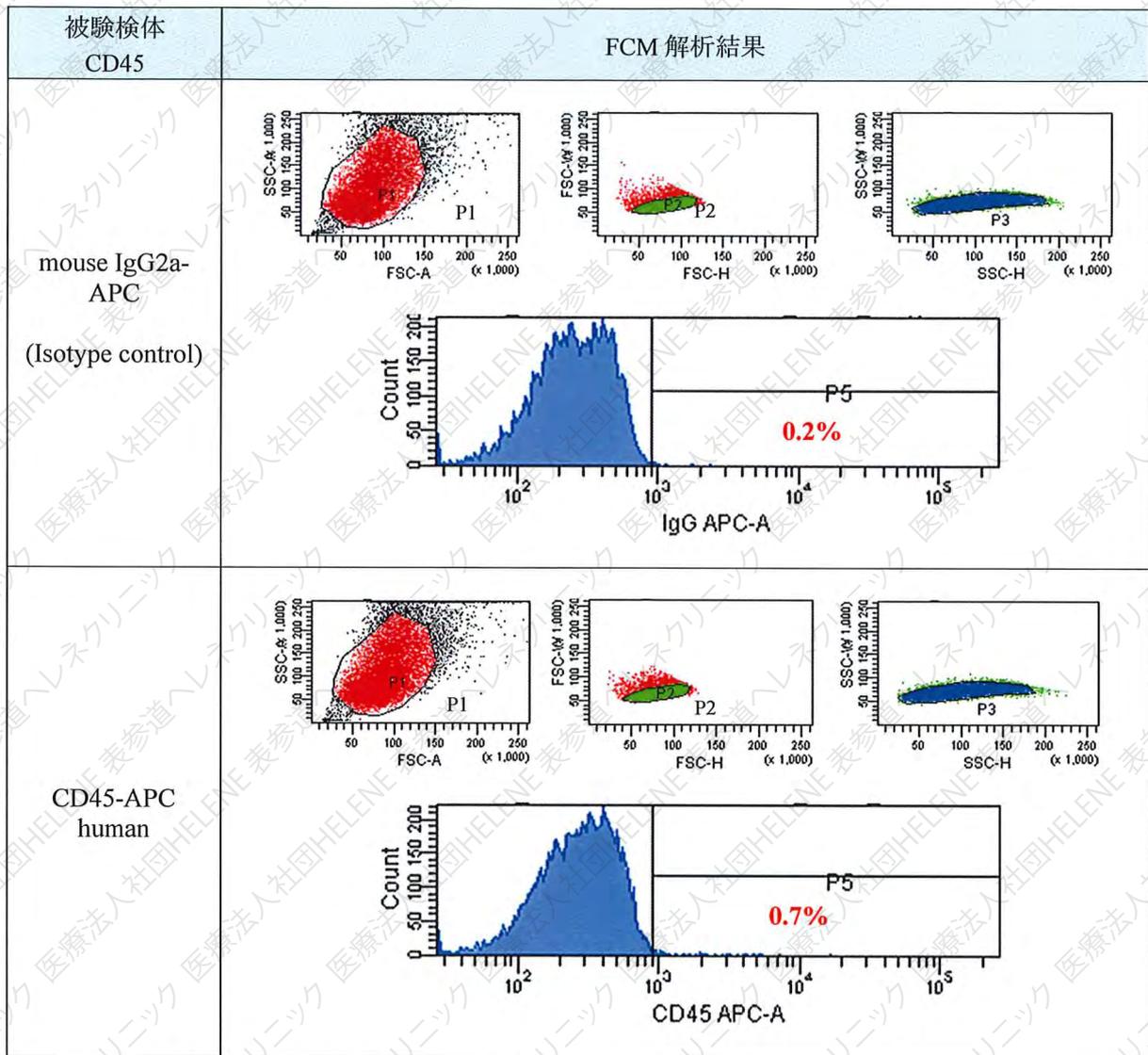


図 2-2. 被験検体の CD45 陽性率

表 3. 陽性検体および被験検体のマーカー陽性率

	CD105 陽性率 (%)	CD45 陽性率 (%)
陽性検体	100	3.1
被験検体	92.6	0.7