

試験報告書

間葉系幹細胞の FCM 解析試験

	所属	氏名	署名	日付
作成者	タカラバイオ株式会社 品質試験センター第1部	■■■■	■■■■■■■■■■	2024年03月22日
承認者	タカラバイオ株式会社 品質試験センター第2部	■■■■	■■■■■■■■■■	2024年03月22日

目次

1. 表題.....	3
2. 管理番号.....	3
3. 委託者.....	3
4. 受託者.....	3
5. 作業期間.....	3
6. 作業概要.....	3
7. 材料.....	4
7.1 被験検体.....	4
7.2 陽性検体.....	4
7.3 主な使用試薬.....	4
7.4 調製試薬.....	5
8. 主な使用機器.....	5
9. 方法.....	5
10. 試験成立条件.....	5
11. 結果の報告.....	6
12. 変更.....	11
13. 納品物.....	11
14. 資料及び記録の保管.....	11
15. 委託者提供物および中間産物の取り扱い.....	11
16. 関連文書.....	12

7. 材料

7.1 被験検体

項目	内容
検体名称	QC_AL ロット：#13349
採取施設	STEMCELL 株式会社
検体種別	凍結細胞
数量	1 本 8.5×10^6 cells
保管条件	液体窒素気相

7.2 陽性検体

項目	内容
検体名称	MSC 増殖試験用細胞 hBM-MSCT ^{†1}
採取施設	タカラバイオ株式会社
検体種別	凍結細胞
数量	1 本 5×10^5 cells/vial
保管条件	液体窒素気相

^{†1} 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。

7.3 主な使用試薬

製品名	メーカー	製品コード
0.5M EDTA	Thermo Fisher Scientific	15575-038
Bovine Serum Albumin	SIGMA	A-9647-50G
CD105-FITC human for 30 tests (clone 43A4E1, IgG1)	Miltenyi Biotec	130-098-778
CD45-APC human for 30 tests (clone 5B1, IgG2a)	Miltenyi Biotec	130-113-676
Dulbecco's PBS w/o Calcium and Magnesium	PromoCell	C-40232
Mesenchymal Stem Cell Growth Medium 2 (Ready-to-use)	PromoCell	C-28009
Via1-Cassette	Chemometec	941-0012 /941-0011
mouse IgG1-FITC for 30 tests	Miltenyi Biotec	130-113-761
mouse IgG2a-APC for 30 tests	Miltenyi Biotec	130-113-831

製品名	メーカー	製品コード
セルストレイナー付きチューブ	BD FALCON	352235

7.4 調製試薬

試薬名	調製方法・保管条件
抗体染色用 Buffer (0.5%BSA/PBS/2 mM EDTA/PBS)	PBS 199.2 mL に 0.5M EDTA を 800 μ L 加えた。さらに BSA を 1 g 加え、混合した。本試薬は用時調製とした。

8. 主な使用機器

機器名	メーカー	型式
安全キャビネット	Esco	LA2-4A2-E-C1
恒温水槽	タイテック	SM-05R
セルカウンター	Chemometec	NC-200
微量高速冷却遠心機	トミー精工	MDX-310
フローサイトメーター	Becton Dickinson	FACSLytic
薬用保冷庫	三洋電機	MPR-504(H)

9. 方法

試験計画書（図書番号：P_6453_K23028-01）に記載の方法で実施した。試験計画書と異なる方法で実施した事項は 12. 変更に記載する。

10. 試験成立条件

- 1) 以下の条件を全て満たすとき、試験成立とする。

項目	判定基準
SSC /FSC 展開パターン	ゲート P1 の展開パターンが、試験試料ごとに同一であり、主な細胞集団がゲート内に収まっている。

11. 結果の報告

以下の事項を報告する。

なお、各陽性率についてはFACSuiteのStatistics View Propertiesにおける%ParentのDecimal Places 設定を1とし、小数点以下第1位まで表示した値を採用した。

- 1) 陽性検体の CD105 陽性率を報告する (図 1)。
- 2) 陽性検体の CD45 陽性率を報告する (図 2)。
- 3) 被験検体 P3 ゲートの CD105 陽性率を報告する (図 3)。
- 4) 被験検体 P3 ゲートの CD45 陽性率を報告する (図 4)。
- 5) 被験検体 P6 ゲートの CD105 陽性率を報告する (図 5)。
- 6) 被験検体 P6 ゲートの CD45 陽性率を報告する (図 6)。
- 7) 被験検体 P9 ゲートの CD105 陽性率を報告する (図 7)。
- 8) 被験検体 P9 ゲートの CD45 陽性率を報告する (図 8)。

結果	陽性検体	被験検体 P3 ゲート	被験検体 P6 ゲート	被験検体 P9 ゲート
CD105 陽性率	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
CD45 陽性率	7.9 %	11.0 %	11.3 %	13.1 %

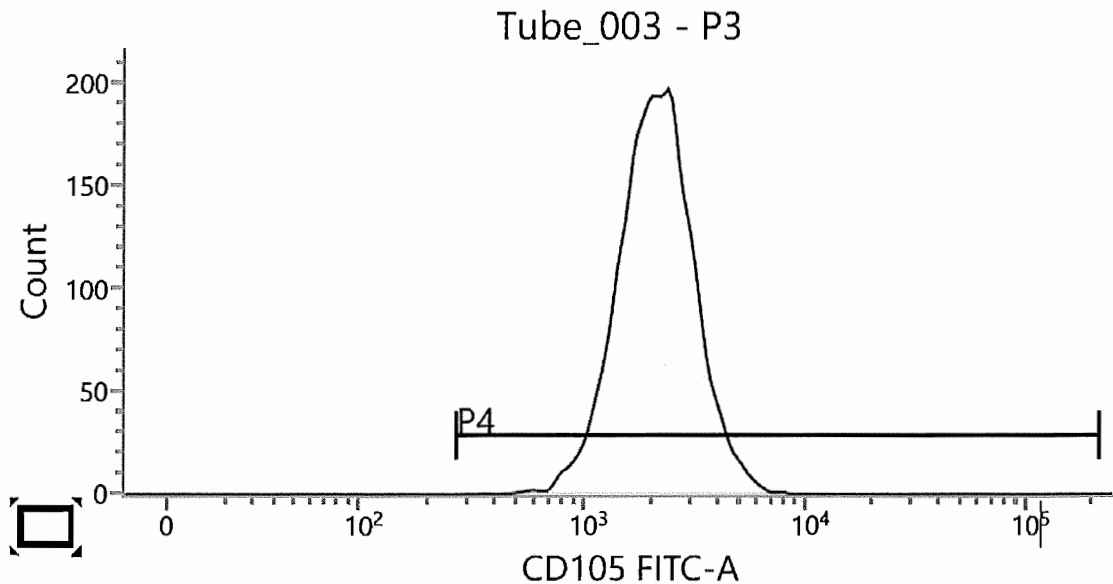


図 1. 陽性検体の CD105 陽性率

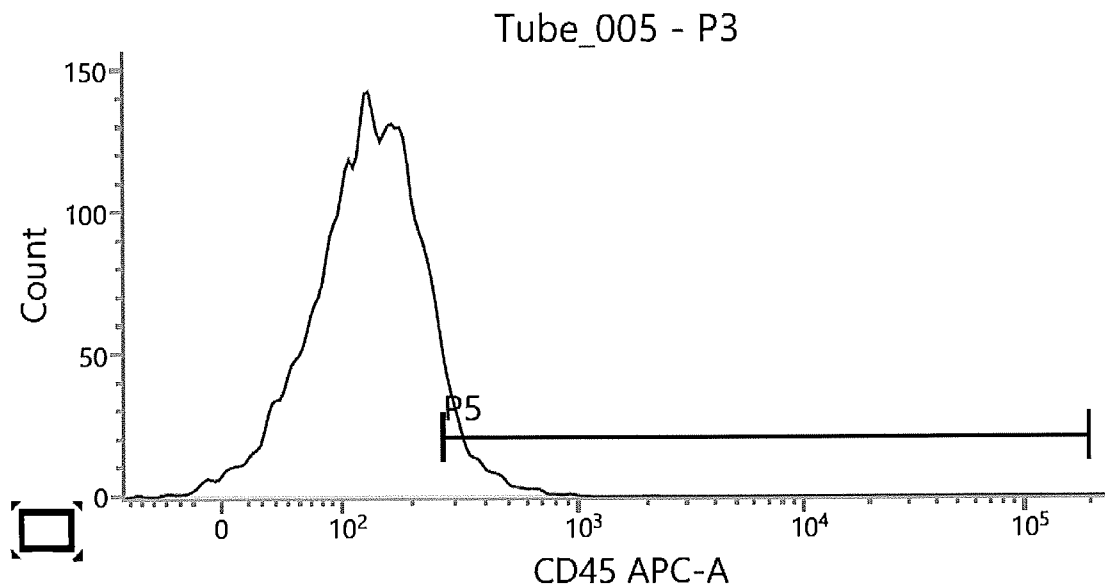


図 2. 陽性検体の CD45 陽性率

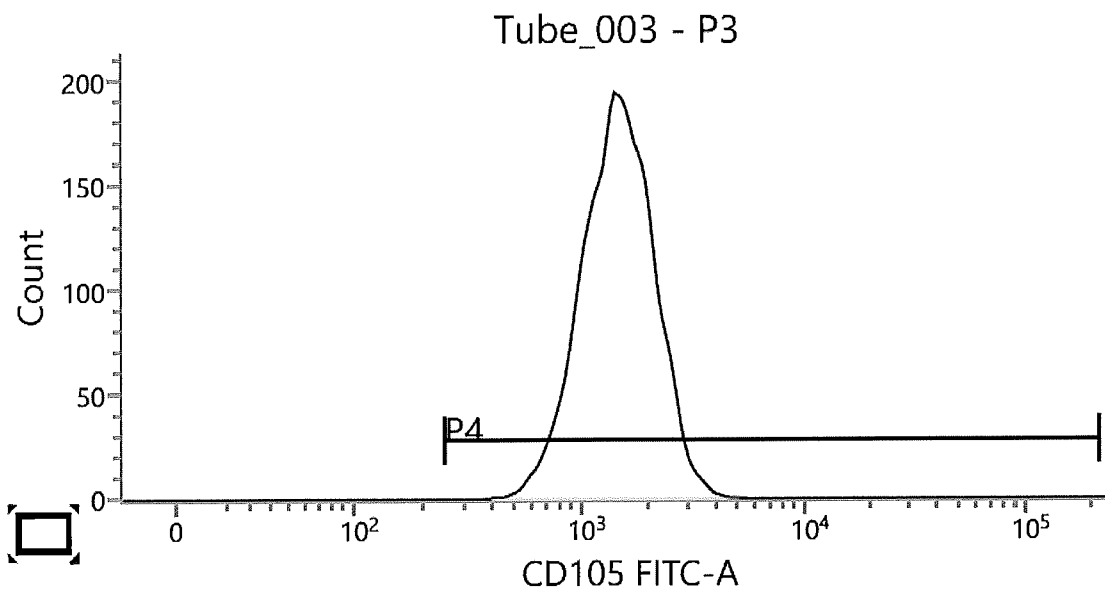


図 3. 被験検体 P3 ゲートの CD105 陽性率

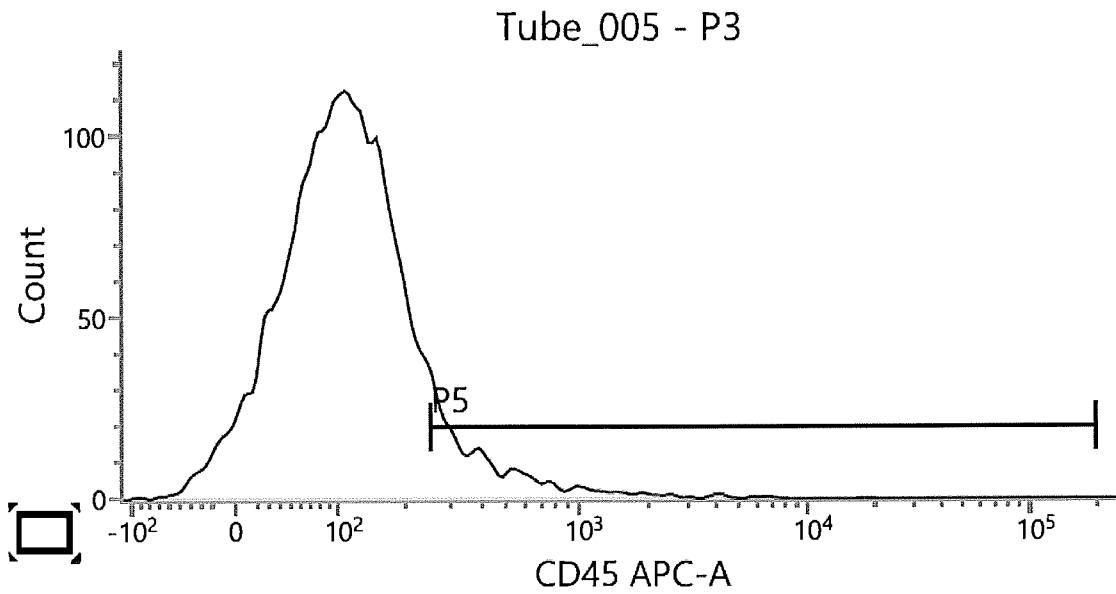


図 4. 被験検体 P3 ゲートの CD45 陽性率

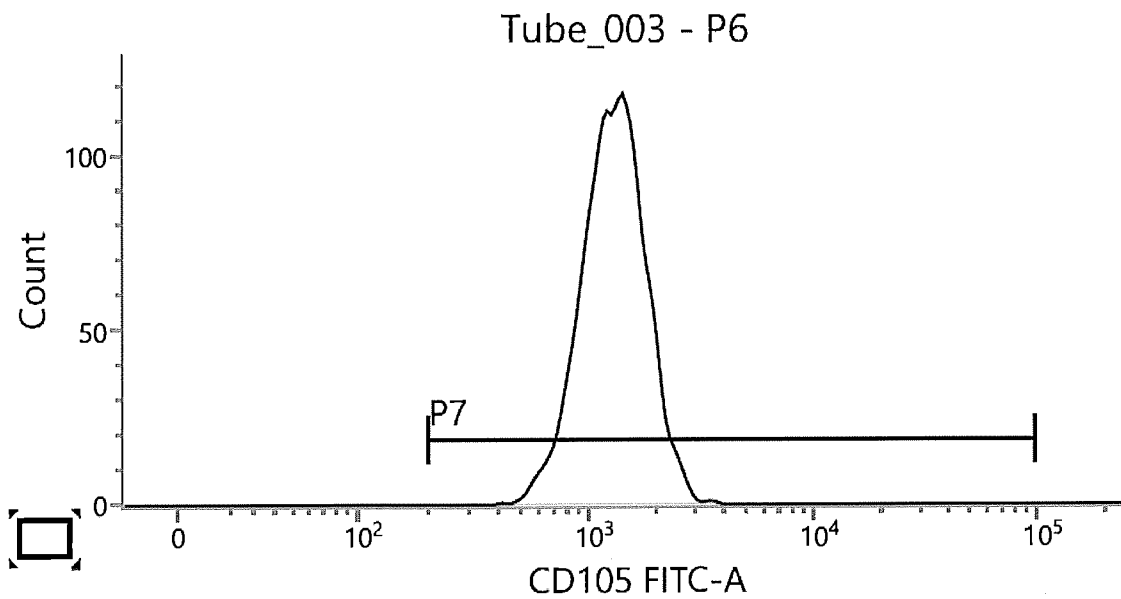


図 5. 被験検体 P6 ゲートの CD105 陽性率

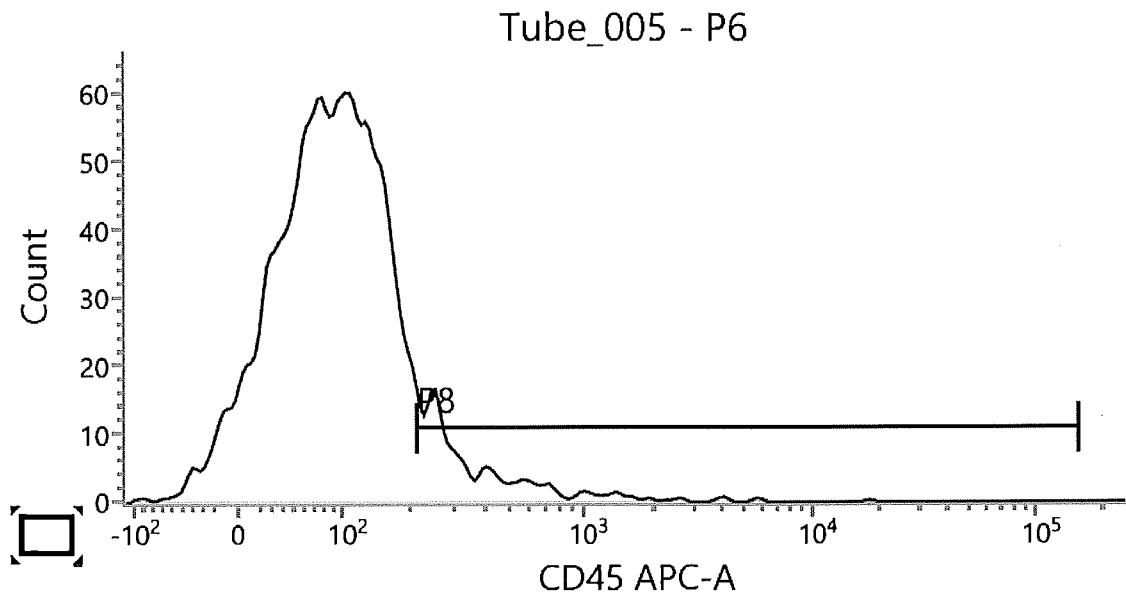


図 6. 被験検体 P6 ゲートの CD45 陽性率

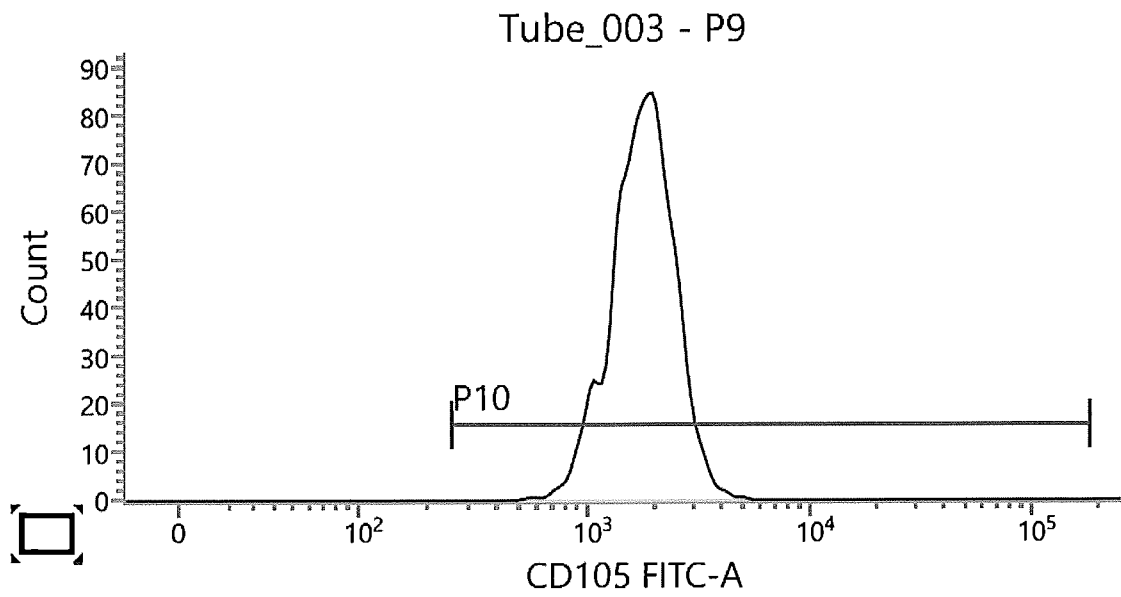


図 7. 被験検体 P9 ゲートの CD105 陽性率

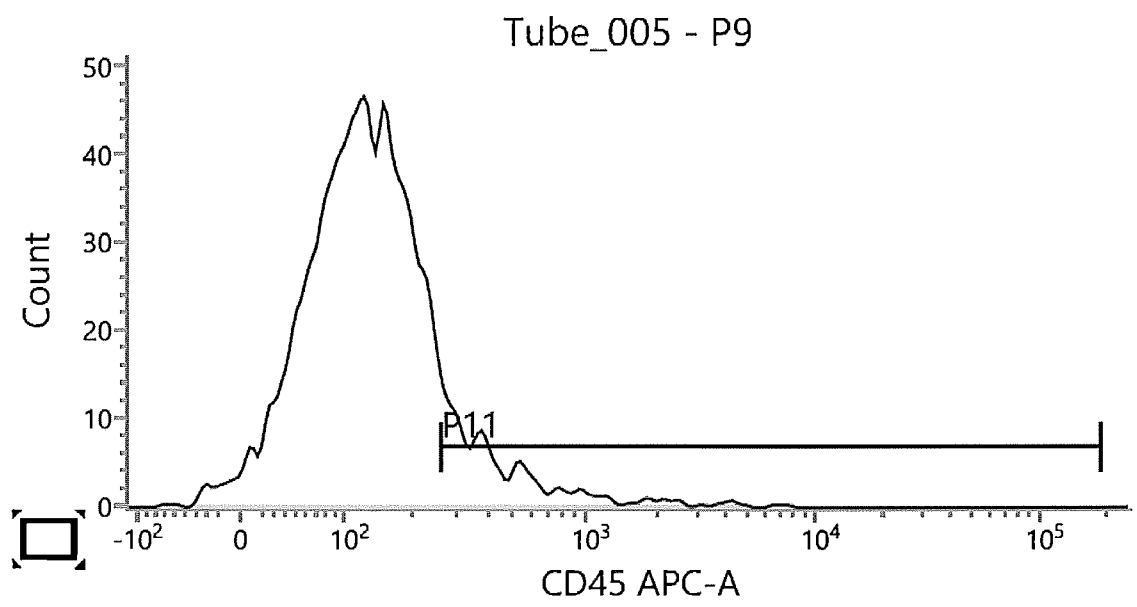


図 8. 被験検体 P9 ゲートの CD45 陽性率

12. 変更

試験計画書（図書番号：P_6453_K23028-01）記載事項のうち下表の事項について実施内容を変更した。

変更前		変更後	
項番号	内容	項番号	内容
7.1 被験検体	予定数量 2本 約 2×10^6 cells	7.1 被験検体	委託者からの提供された被験検体の細胞数に変更となった為、下記の通り修正した。 1本 8.5×10^6 cells
8. 主な使用機器	機器名：連続分注器	8. 主な使用機器	本試験では使用しなかった為、削除した。
試験計画書 9.1 細胞の解凍と抗体染色	8) 2×10^5 cells の細胞懸濁液を1.5 mL チューブ 5本に分注する。	試験計画書 9.1 細胞の解凍と抗体染色	陽性検体については、5) 工程後の細胞懸濁液を5等分し、1.5 mL チューブ 5本に分注した。

13. 納品物

- | | |
|--------------|----|
| 1) 試験計画書（原本） | 1部 |
| 2) 試験報告書（原本） | 1部 |

14. 資料及び記録の保管

- 1) 資料及び記録名
 - ・ 試験計画書（写し）
 - ・ 試験報告書（写し）
 - ・ 作業記録類
- 2) 保管場所
タカラバイオ株式会社 本社
- 3) 保管期限
 - ・ 10年

15. 委託者提供物および中間産物の取り扱い

委託者からの提供物および中間産物は、別途期限を定めている場合を除き、業務終了3か

月後から順次廃棄する。

16. 関連文書

作業報告書 細胞品質管理試験<FCM解析(非 GMP/GLP)>(図書番号:FR_6499_M1802-01)

以上