

# ES細胞の医療応用における問題点

## 胚提供に関わる問題

- ・ICの方法
- ・ドナーセクション(スクリーニング)
- ・体外受精・凍結・解凍のプロトコール
- ・匿名化

## 培養技術に関わる問題

感染性因子の排除      造腫瘍性などの細胞自身のもつリスク

培養液      接着基質      解離液      凍結液

蛋白成分についてはアニマルフリー、リコンビナント蛋白の利用が進んでいる。  
動物由来成分によるリスク vs ヒト由来成分によるリスク  
抗原性の点から、N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc)の混入のコントロール

培養環境をdefine することによるリスク (ex. より増殖能の高い細胞群の選択)

すでに樹立されている細胞株の扱い

## 品質管理基準としての特性解析

無菌試験、ゲノム解析(染色体、CNV)  
マーカー分子・遺伝子発現? 分化能?

## 細胞株の選択基準

## その他

バンキングや細胞株の分配方法

## cGMP-compliant reagents for human ES/iPS cell culture

Reagent	Supplier	Regulatory comments
DMEM	Invitrogen Corporation, USA	Custom manufactured under cGMP with full USP sterility testing
Knockout SR	Invitrogen Corporation, USA	Custom manufactured under cGMP with full USP sterility testing
l-Glutamine (200 mM)	Invitrogen Corporation, USA	Manufactured under cGMP
Non-essential amino acids	Invitrogen Corporation, USA	Manufactured under cGMP
Trypsin/EDTA	Invitrogen Corporation, USA	Manufactured under cGMP; porcine parvovirus tested
Collagenase NB6	Nordmark Arzneimittel GmbH, Germany	Manufactured according to cGMP guidelines, sterility tested according to EP
Human basic FGF	Strathmann Biotec AG, Germany	Manufactured under cGMP
Fetal bovine serum	Cambrex Bio Science, USA	Qualified under cGMP, (Australian, USA origin)
DMSO	Sigma-Aldrich, USA	Biotechnology performance certified; USP & EP compliant

## Commercially available defined media for human ES/iPS cell Culture

Medium	Supplier	Comments
mTeSR1	Becton Dickinson, USA	non-animal free, BSA etc.
TeSR2	Becton Dickinson, USA	Animal free
HesGro	Millipore	Animal free, used with human feeder
StemPro hESC SFM	Invitrogen Corporation, USA	non-animal free, BSA etc.
Knockout SR Xeno Free	Invitrogen Corporation, USA	Animal free, used with human feeder

### Substrate for human ES/iPS cell culture

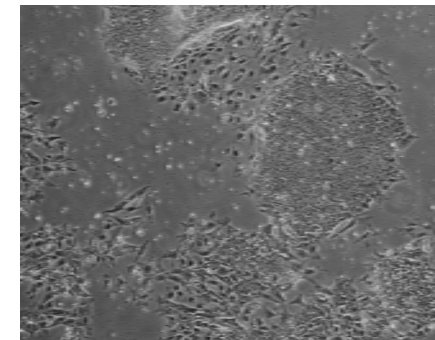
#### Matrix

Matrigel, Geltrex	Invitrogen, BD	animal derived crude matrix
CellStart	Invitrogen Corporation, USA	animal free
Human fibronectin, laminin etc.		human derived , recombinant

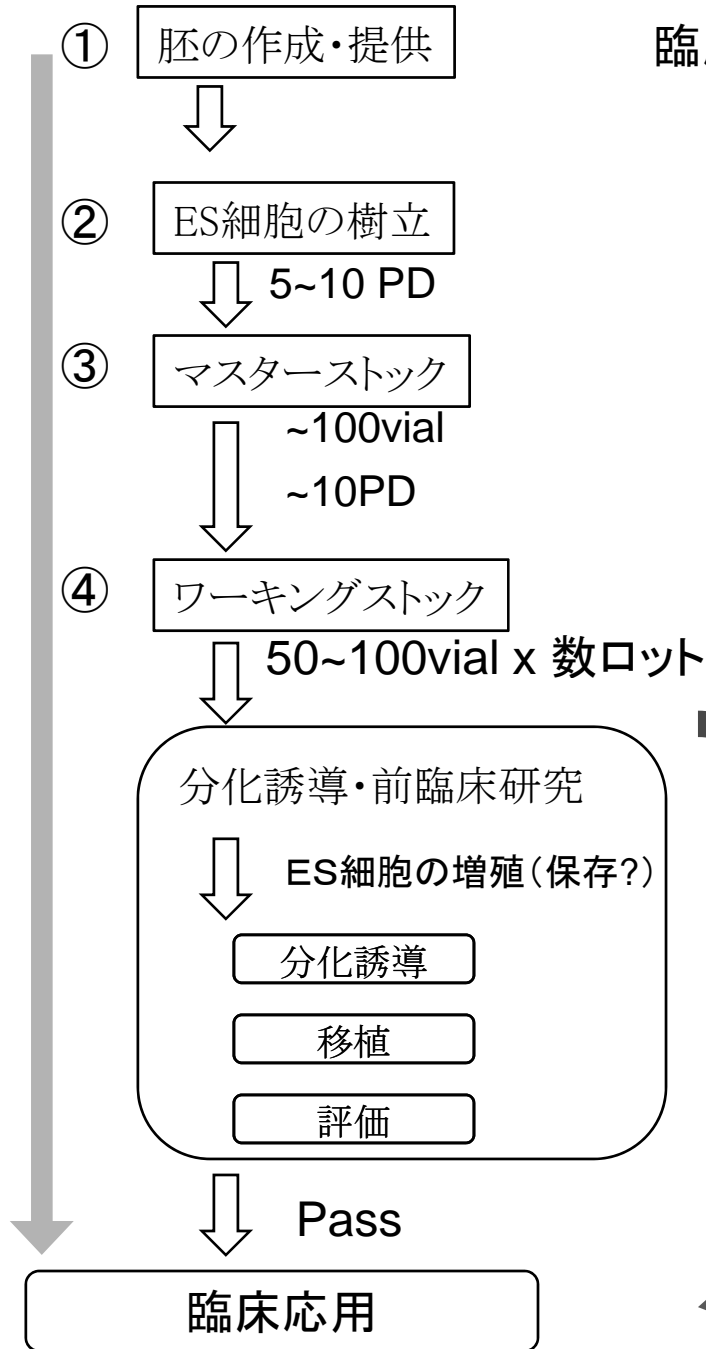
#### Feeder

Mouse embryonic fibroblast  
Human dermal fibroblast

Xeno free medium/ humanized matrix



# 臨床用ES細胞のバンキングと分配(例)



## ③ 品質検査基準

無菌試験:細菌・マイコ・ウイルス  
核型(Gバンド、FISH)・CNV・STR  
遺伝子発現、表面マーカー  
増殖、(分化能)

## ④ 同一性試験 凍結解凍、継代による変化検査

核型(Gバンド、FISH)・CNV・STR  
遺伝子発現、表面マーカー  
増殖、(分化能)

前臨床研究の開始段階でプロトコルが確認されていることが望ましい