

THE COMMENTARY

再生医療製品および 研究用レベルのヒト多能性幹細胞の染色体解析

押村 光雄¹⁾ 香月加奈子²⁾ 高原 昇子³⁾ 平松 敬⁴⁾

鳥取大学染色体工学研究センター 特任教授¹⁾, 特命助教²⁾
株式会社 Trans Chromosomics 管理部次長³⁾
鳥取大学大学院医学系研究科 博士後期課程⁴⁾

はじめに

ヒト多能性幹細胞(ESあるいはiPS細胞)の大きな特性は、自己増殖能と多様な分化能を有することであり、これらのヒト多能性幹細胞は再生医療製品の原材料として、間葉系幹細胞(mesenchymal stem cell ; MSC)とともに、品質と安全性の確保ばかりでなく、疾患モデル細胞や創薬基盤細胞においても極めて重要な資材となっている。

特に、遺伝的に安定な多くの未分化細胞の獲得のためにも継代培養が必須であるため、継代に伴う遺伝的変異を持つ細胞集団の選択的増殖を避けられないこととなる。遺伝的変異の有無の確認には、解析方法として染色体バンディング法、定量PCR(quantitative polymerase chain reaction ; qPCR)、蛍光*in situ* ハイブリダイゼーション(fluorescent *in situ* hybridization ; FISH)、一塩基多型(single nucleotide polymorphism ; SNP)、比較ゲノムハイブリダイゼーション(comparative genomic hybridization ; CGH)、次世代シーケンサー(next generation sequencer ; NGS)等による解析がある。最近、多くの研究者あるいは事業者から国際的基準に準拠したフローチャートはないかとよく聞かれるようになり、長年にわたり、iPS細胞を含め染色体研究を行ってきた研究機関、鳥取大学染色体工学研究センター(Chromosome Engineering Research Center ; CERC)として、国際状況、文献や報告書等¹⁾⁻¹¹⁾を踏まえ、本稿では、再生医療製品及び研究用製品のための染色体解析の標準フローチャートを提案する。

ヒト幹細胞の染色体解析における標本作製の注意点

ヒトiPS細胞、ヒトES細胞、ヒトMSCのカルノア固定プロトコールについては、紙数の関係から割愛するが、ラボ間の若干の相違はあるものの教科書等の一般的な染色体標本の作製法¹⁾と基本的には変わらない(CERC ホームページ参照。<http://www.med.tottori-u.ac.jp/chromosome/536/protocols.html>)。特に注意点としては、トリプシン等によって細胞を十分に分散させることが重要である。もし、問題点についてCERCに問い合わせをいただければ情報を提供する。特に染色体分染法による解析には400バンドレベル以上のバンディングを持つ染色体が必要であり²⁾、そのような染色体像が得られない場合には、再度標本作製から始めることを勧める。染色体標本の良し悪しとその後の解析結果の正確性や労力に大きく影響してくるため、解析者によって結果がしばしば異なることがあり、染色体解析の経験の差によってそれが顕著に表れる。しかし、経験が多い人であってもアーティファクトは最小限に留めることはできても避けられないため、アーティファクトによる標本の広がり過ぎがあったとしても、観察するときには良い展開のものを選択する目を養うことが必要である