一【原 著】————Original —

臍帯血バンクでのコロニー形成試験法の標準化に向けた自動コロニー判定システム の評価

松山 宣樹¹⁾ 坂元 宏隆¹⁾ 勝田 通子¹⁾ 小野 明子¹⁾ 石井 博之¹⁾ 市原 孝浩²⁾ 東 史啓²⁾ 平山 文也¹⁾ 瀧原 義宏¹⁾ 高梨美乃子²⁾ 木村 貴文¹⁾

コロニー形成試験(CFU 試験)は、移植後の造血回復能を予測できる臍帯血品質試験法として用いられているが、コロニーの種類と数を顕微鏡下にて目視で判定することから主観的要素を完全に排除することが難しく、判定者ごとに結果の不揃いが生じやすい。これを解決するために、CFU 試験における自動コロニー判定システム(STEMvision™)の有用性について 30 例の臍帯血を対象に検討した。まず、樹脂製擬似コロニーを埋め込んだ精度管理用プレートでシステムの安定的稼働を確認した。同システムでの自動判定と技術職員 2 名による目視判定の結果を比較したところ、3 者のうちのいずれの 2 者間の比較でも総コロニー数における極めて強い相関(rs>0.92、p<1.0×10 $^{-39}$)と CFU-GM 数における強い相関(rs>0.79、p<1.6×10 $^{-20}$)をそれぞれ認めた。STEMvision™による CFU 判定結果は、目視判定法の結果と同程度であった。以上の結果より、自動コロニー判定システムは精度管理が可能であり、CFU 試験の標準化に向けて導入の検討に値すると考えられる。

キーワード:臍帯血, コロニー形成試験, 自動コロニー判定

はじめに

同種造血幹細胞移植は血液疾患の根治療法として広く用いられてきた.血縁者間および非血縁者間骨髄/末梢血幹細胞移植に加えて,近年は非血縁者間臍帯血移植も治療法としての地位を確立しており、公的さい帯血バンクの役割と責任も増している¹⁾.

現在,公的さい帯血バンクでは,臍帯血受け入れ時及び調製保存時,提供前にそれぞれ品質検査を実施している.その項目には外観試験,有核細胞数測定,CD 34 陽性(以下,CD34*)細胞数測定検査,コロニー形成試験(以下,CFU試験)及び無菌試験が含まれるが,CFU試験は臍帯血に含まれる造血幹細胞のin vitroでの増殖・分化能を調べる培養検査であり,CD34*細胞数とともに臍帯血を輸注した患者での造血系再構築能を反映する²⁾³⁾.複数の造血因子を添加した半固形培地で造血幹細胞を含む臍帯血を14日間程度培養するが,培養後に様々なコロニーの種類と数を顕微鏡下に同定・計測することで,臍帯血に含まれる造血幹細胞の増殖・分化能を量的・質的に調べることができる優れた試験法である^{4)~7)}.

一方, 本試験法には幾つかの問題点が存在する. 機

械化が遅れており通常は目視判定が行われていること から、コロニーを正確に判定できる技術者の養成には 長期間の教育と経験が必要である. また, コロニーの 形状や重なりの判断に主観を伴うために8,複数の判定 者間で判定結果がしばしば不揃いとなる9.したがって 試験法としての厳密な精度管理は困難である. さらに, 検鏡に高い集中力を長時間要求されることも大きな負 担となっている.これらの問題を解決する方法として, コロニー判定の自動化が挙げられる. Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative では CFU 試験の標準化に向け、コロニー判定の自動化の必 要性を訴えており100海外ではすでに導入済みの施設もあ る11). 今回, 我々は CFU 試験における前述の諸問題を 解決するために、コロニーの数と種類を自動判定でき る STEMvision™ (STEMCELL™ TECHNOLOGIES 社)の性能評価を行い、目視判定法に代わる標準試験 法としての可能性について検討したので報告する.

対象及び方法

1. 対象

臍帯血採取協力施設で採取された研究利用同意取得

〔受付日: 2021年7月21日, 受理日: 2021年9月13日〕

¹⁾ 日本赤十字社近畿ブロック血液センター

²⁾ 日本赤十字社血液事業本部

済み臍帯血のうち、受け入れ試験で調製不適となった 30 例の臍帯血を対象とした、また、一部の試験では凍 結・解凍後の臍帯血を用いた。

2. 方法

1) 濃縮臍帯血サンプルの調製

臍帯血全量に臍帯血の1/5容のHES40(分子量=40,000, ニプロ社)を加えて混和後,20℃,50×g,5分間遠心 による赤血球沈降処理を行った.遠心処理後に有核細 胞を含む上層を回収し,再度遠心処理によって回収し た細胞ペレットを濃縮臍帯血サンプルとして用いた.

2) 臍帯血の凍結および解凍

濃縮臍帯血サンプルに凍害保護剤 (CryoSure-DEX 40, WAK-Chemie Medical GmbH 社)を冷却しながら添加し、プログラムフリーザー(CM21, 大陽日酸株式会社)を用いて凍結ののち、液体窒素タンク内で保管した。また、凍結臍帯血サンプルは37℃恒温槽内で急速解凍して用いた。

3) CD34+細胞数測定

CD34⁺生細胞の同定には BD[™] Stem Cell Enumeration Kit(ベクトンディッキンソン社)を用いた. CD 34⁺細胞数測定には BD FACS Calibur(ベクトンディッキンソン社),解析ソフトは Cell Quest[™] PRO(ベクトンディッキンソン社)をそれぞれ用いた.

4) コロニー形成試験

CD34⁺細胞の播種濃度が50~100 個/ウェルになるようにIscove's Modified Dulbecco's Medium with 2 % Fetal Bovine Serum(STEMCELL[™] TECHNOLOGIES社)を用いて濃縮および解凍後臍帯血サンプルを希釈した。希釈した臍帯血サンプルは MethoCult[™] H4034 Optimum(STEMCELL[™] TECHNOLOGIES社)に規定量ずつ加えて混和し、SmartDish[™](STEMCELL[™] TECHNOLOGIES社)に 3 ウェルずつ分注して 37℃、5%CO2 の条件で 12 日~16 日間培養した。

5) 目視法および STEMvision™によるコロニー判定コロニー判定は、固定した 2 名の技術職員(経験年数:技術職員 1 は 5 年、技術職員 2 は 15 年)による顕微鏡下目視判定と STEMvision™(STEMCELL™ TECHNOLOGIES社)を用いて行った、測定ソフトはSTEMvision™ Acquisition(STEMCELL™ TECHNOLOGIES社),解析ソフトは STEMvision™ Analyzer(STEMCELL™ TECHNOLOGIES社)をそれぞれ使用した。コロニーは、色調や形状などのコロニーの性状に基づいて顆粒球・マクロファージコロニー形成細胞(CFU-GM)、赤芽球バースト形成細胞(BFU-E)、混合コロニー形成細胞(CFU-GM)、に分類し、CFU-GM、BFU-E、CFU-Mix の各数と総コロニー数を記録した。

6) STEMvision™による自動判定

STEMvision™の自動判定に先立ち, 電源投入後暖機

運転を 10 分間実施した後に STEMvision QC PlateTMをセットし、焦点と露光の調整を行なった。次に 1 枚目のサンプルプレートをセットし、焦点と露光の再調整後に測定した。また、この間に STEMvision QC PlateTMの解析を並行して行なった。1 枚目のサンプルプレート測定終了後に 2 枚目を測定するが、この間に 1 枚目のサンプルプレートの解析が可能である。2 枚目以降のサンプルプレートは焦点と露光調整が不要であり、これ以降は測定とその前のプレートの解析を繰り返し同時に実施した。

7) 最適な細胞播種濃度の検討

凍結前および解凍後臍帯血サンプルを対象とし、前者は CD34⁺細胞が 1 ウェル当り 10 個, 20 個, 50 個, 100 個, 150 個, 200 個, 後者は 10 個, 20 個, 50 個, 100 個, 150 個含まれるように播種した。

8) 精度管理プレートの評価

STEMvision QC Plate[™] (STEMCELL[™] TECHNOLOGIES 社)は、赤芽球系細胞または骨髄球系細胞を模写したマイクロビーズをシリコンレイヤーに埋め込んだ STEMvision[™]専用の精度管理用 6 ウェルプレート (SmartDish[™], STEMCELL[™] TECHNOLOGIES 社)であり、2 種類のマイクロビーズコロニー(Erythroid, Myeloid)が 3 種類の既知の濃度でそれぞれ 2 ウェルずつ配置されている(図 1A). 期待されるコロニー数はSTEMvision QC Plate[™] ごとに異なるため、今回われわれが用いた STEMvision QC Plate[™] が STEMvision[™]の精度管理に適するかを評価した.

9) 統計解析

2名の技術職員および STEMvision™によるコロニー判定結果間の相関性解析にはスピアマン順位相関を用いた. また判定結果の3群間の有意差はボーンフェロニー補正ウィルコクソン符号付順位和検定を用いて検定し, p<0.01で有意差ありと判定した.

結 果

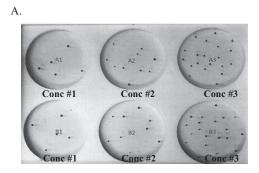
1)精度管理用プレート STEMvision QC Plate™の評

濃度を3段階に振り分けた Erythroid 及び Myeloid の擬似コロニーの判定を2名の技術職員とSTEMvision™で行ったところ,3者間で観察結果と設定値はほぽ一致した(図1B).

2)STEMvision™測定時間と発出されるエラーメッセージ

STEMvision[™]での測定フローと2枚のサンプルプレートあたりの平均測定時間を図2に示した.

STEMvision[™]の測定時間は3ウェル(1 サンプル)で3分, 6ウェル(2 サンプル)では5.5 分であり,解析に要する時間は3ウェルで3分, 6ウェルでは6分であっ



В.

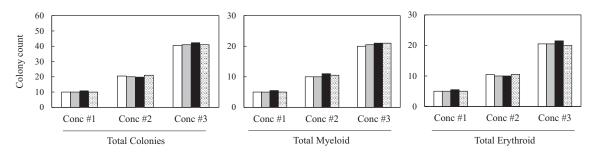


図 1 STEMvision QC PlateTM の判定結果

□:技術職員1判定結果, ■:技術職員2判定結果,

■: STEMvision[™] 判定結果,圖: STEMvision QC Plate[™] 設定値

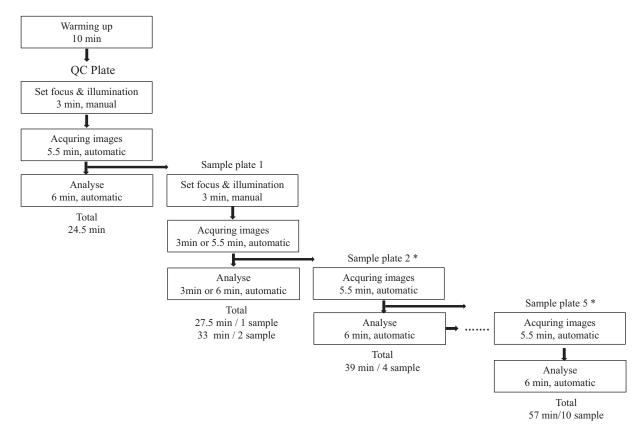
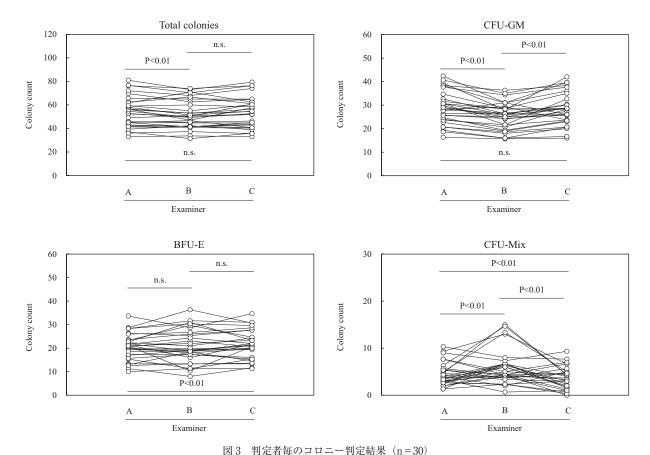


図 2 STEMvisionTM を用いた自動判定に要する概算時間 SmartDishTM1 枚 (=6 ウェル) の判定に要する時間を示す。3 枚目以後は*以後の繰り返しとなる



Examiner A: 技術職員 1, Examiner B: 技術職員 2, Examiner C: STEMvisionTM, Total colonies は CFU-GM, BFU-E 及 び CFU-Mix の合計.

た. また,この測定フローによる自動判定に要する処理時間は、サンプルプレート 1 枚 (1 サンプル) では約27 分であり、サンプルプレート 1 枚 (2 サンプル) で33 分であった.以後はサンプルプレート 1 枚当たり(2 サンプル) の処理時間が6 分のためサンプルプレート 2 枚 (4 サンプル) で 39 分、サンプルプレート 5 枚 (10 サンプル) で 57 分を要する.

従来の目視判定では 1 サンプル (3 枚の 35mm ディッシュ) に要する時間は $5\sim10$ 分程度であり、2 サンプルでは $10\sim20$ 分、10 サンプルでは $50\sim100$ 分程度の時間を要するが、STEMvision[™]では 1 サンプルでは 27 分、2 サンプルでは 33 分、10 サンプルでは 57 分であり、サンプル数が少ない場合には目視に比べて判定時間は長くなった。しかし、この差はサンプル数の増加に従って縮小すると試算される(図 2).

一方,本検討での臍帯血30例(合計90ウェル)を対象とする測定ではいずれのエラーメッセージも発出されなかったことから、システム作動および測定手順のいずれにおいても問題はないと考えられた.

3) コロニー判定結果

 ロニー数平均値は、技術職員1は51個、技術職員2 は 49 個, STEMvision[™]では 50 個の判定であり, CFU-GM ではそれぞれ 28 個, 24 個, 27 個, BFU-E は 19 個, 18 個, 20 個, CFU-Mix では 4 個, 6 個, 3 個であっ た.3者の判定結果における有意差検定を行ったところ, CFU-GM 数では技術職員 1 と技術職員 2 の間 (p=2.77 ×10⁻⁷)及び技術職員2とSTEMvision™間(p=5.59 ×10⁻⁷) で有意な差を認めた. それとは反対に、BFU-E 数では技術職員1と STEMvision™の間でのみ有意な 差となった (p=3.73×10⁻⁵). CFU-Mix 数はいずれの 2 者間においても有意差が存在したが、頻度が極めて低 いことから評価の対象としなかった. 総コロニー数で の解析では、技術職員2者間にのみ有意差(p=0.0008) を認める結果となり、STEMvision™による判定結果が 目視法による判定結果と比較して有意な差がないこと を確認できた.

4) CFU 数観察結果の相関

次に3者の判定結果の相関性について解析した. 総コロニー数における相関係数は技術職員1及び技術職員2間では0.9361,技術職員1及びSTEMvision[™]間は0.9742,技術職員2及びSTEMvision[™]間は0.9269で,いずれも極めて強い相関を示した. CFU-GM でもそれ

ぞれ 0.8603, 0.9498, 0.7915 と強い相関が見られた. BFU-E は 0.8182, 0.9482, 0.8385, CFU-Mix では 0.4251, 0.7896, 0.4595 であった. p 値による判定では, 全ての組合せに

表1 コロニー種別判定結果で見た判定者 間の相関と有意差

	rs	p-value	
Total colonies			
Examiner A vs B	0.9361	1.04×10^{-41}	
Examiner A vs C	0.9742	9.54×10^{-59}	
Examiner B vs C	0.9269	3.17×10^{-39}	
CFU-GM			
Examiner A vs B	0.8603	1.70×10^{-27}	
Examiner A vs C	0.9498	3.34×10^{-46}	
Examiner B vs C	0.7915	1.61×10^{-20}	
BFU-E			
Examiner A vs B	0.8182	7.27×10^{-23}	
Examiner A vs C	0.9482	1.35×10^{-45}	
Examiner B vs C	0.8385	1.35×10^{-25}	
CFU-Mix			
Examiner A vs B	0.4251	2.97×10^{-5}	
Examiner A vs C	0.7896	2.30×10^{-20}	
Examiner B vs C	0.4595	5.21×10^{-6}	

rs:スペアマン順位相関係数, p-value:p値, Examiner A:技術職員 1, Examiner B:技術 職員 2, Examiner C:STEMvisionTM, n=90. おいて有意に相関していた. 相関係数と p 値は表 1, 代表的な相関図を図 4 に示した.

5) 最適な細胞播種濃度の検討

種々の CD34 細胞濃度で凍結前臍帯血および解凍後臍帯血を播種し、培養後に STEMvisionTMで判定した際に発出されたエラーメッセージをそれぞれ表 2 に示した。前者では播種濃度ウェルあたり 50 個,100 個,150 個で,後者では 50 個の条件でエラーメッセージの発出を回避した。これらの結果は、凍結前および解凍後いずれのサンプルの場合も、STEMvisionTMを用いた CFU 試験の判定に最適な CD34 細胞の播種条件が 50 個/ウェルであることを示唆する.

考 察

CFU 試験は臍帯血に含まれる造血幹細胞の増殖・分化能を調べる有用な検査である。形成されたコロニーは顕微鏡下で同定および計数するが、今回我々は手作業による本試験の自動化・標準化の可能性について、自動コロニー判定システム STEMvisionTMを対象に検討した。その結果、2名の技術職員と STEMvisionTMの間では、一部の CFU 数判定結果において有意な差が認められた。有意差が認められた総コロニー数については、

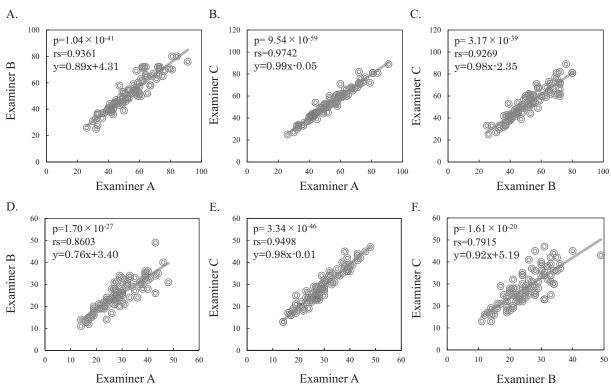


図4 コロニー判定結果における判定者間の相関 (n=90)

技術職員 1 と技術職員 2 における総コロニー数の相関(A)、技術職員 1 と STEMvisionTM における総コロニー数の相関(B)、技術職員 2 と STEMvisionTM における総コロニー数の相関(C)、技術職員 1 と技術職員 2 における CFU-GM 数の相関(D)、技術職員 1 と STEMvisionTM における CFU-GM 数の相関(E)、技術職員 2 と STEMvisionTM における CFU-GM 数の相関(F)、 rs:スペアマン順位相関係数、p:p 値.

	Plated numbers of CD34-positive CB cells / well							
	10	20	50	100	150	200		
CB #1	Colony number below target range	Colony number below target range	None	None	None	Check image quality, Colony number above target range		
CB #2	Colony number below target range	Colony number below target range	None	None	None	None		
CB #3	Colony number below target range	Colony number below target range	None	None	None	Check image quality, Colony number above target range		
Thawed CB #1	Colony number below target range	Colony number below target range	None	None	Check image quality, Colony number above target range	n.t.		
Thawed CB #2	Colony number below target range	None	None	Check image quality, Colony number above target range	Check image quality, Colony number above target range	n.t.		
Thawed CB #3	None	None	None	Check image quality, Colony number above target range	Check image quality, Colony number above target range	n.t.		

表2 各播種濃度におけるエラーメッセージ

CB: 凍結前臍帶血, Thawed CB: 解凍臍帶血, n.t.: not tested, Check image quality: called when the mask area is too large...indicating meniscus or dehydration, Colony number below target range: called when colony number is below 20. Colony number above target range: called when colony number is above 100.

平均で技術職員 1 は 51 個,技術職員 2 は 49 個であり、その差は許容できる範囲であると考えられた。また、CFU-GM においては平均で、技術職員 1 は 28 個,技術職員 2 は 24 個,STEMvision™は 27 個であり、CFU-Mix はそれぞれ 4 個と 6 個,3 個であった。CFU-GMを CFU-Mix に分類するか CFU-GM に分類するかが有意差の要因と考えられる。CFU-GM カウントを複数のラボで比較した結果、平均値データの乖離が 31%であったとの報告があるが¹²、本研究の結果も同様であった。近畿さい帯血バンクでは、CFU 試験に必要な目視判定の教育訓練を継続的に実施している。加えて、定期的な自己点検や国内 6 臍帯血バンク間による profociencity testへの参加を利用して判定能力の向上や標準化に注力しているものの、まだ不十分であるとの示唆と受け止める。

しかし一方で、いずれの2者間の比較においても有意な相関を認めた。特に提供前検査の項目である総コロニー数と CFU-GM 数では極めて強い相関をそれぞれ確認している。

つまり、判定作業に検査担当者を介さない STEMvision™の CFU 試験への導入は、従来の目視判定法と同程度の結果が得られることが示唆された。また、同システムは測定と解析が自動のため、この間に他の業務に従事することが可能であった。

一方,近畿さい帯血バンクでは,凍結前臍帯血は保存時検査として CD34[†]細胞数を 35mm ディッシュあたり 50~100個,解凍後臍帯血は提供前検査として 50

個をそれぞれ至適濃度と規定して播種している. STEM-vison™による判定の際にも、これらの播種濃度ではエラーメッセージはまったく発出されなかった. したがって、これらの CD34[†]細胞播種濃度および培養条件で、エラーメッセージが発出されることのない安定的な STEMvision™による自動判定が可能であると考えられる。

最近ではSTEMvision[™]を用いたコロニー判定に関す る報告もみられ13)~16). その有用性に一定の評価が得ら れつつあることからも、STEMvision™を用いた機械的 判定法の導入によって CFU 試験におけるコロニー判定 業務の標準化と判定結果の信頼性向上が期待できる. それに加えて、複数臍帯血の連続コロニー判定も可能 であるという STEMvision™の特性によって,多大な労 力を要する複数培養皿の目視判定が不要となるばかり でなく、CFU 試験が高い判定能力を持つ技術者だけに 許された特殊な試験法ではなくなる. さらに、STEMvision QC Plate[™]が STEMvision[™]の精度管理に有用で あることが明らかになったが、このことは STEMvision™ が検査用機器として高い客観性と信頼性を試験結果に 付与することを意味する. 自動判定システムのバック アップとしての目視コロニー判定技術の維持に留意す れば、STEMvision™の導入によって CFU 試験の平準 化・標準化が推進可能と考える.

著者の COI 開示:本論文発表内容に関連して特に申告なし 謝辞:本研究は令和2年度厚生労働行政推進調査事業費の補助 (課題番号:20CA2087) を受けて実施した.

文 献

- 1) 日本における造血幹細胞移植の実績. http://www.jdchct.or.jp/data/slide/2019/transplants_ 2019_JDCHCT_20200331.pdf (2021 年 9 月現在).
- 平松英文:ヒト造血系の発生と分化. Jpn J Pediat Hematol Oncol, 54:294—298, 2017.
- 3) 茂木祐子, 高橋恒夫, 門脇絵実, 他: ヒト臍帯血幹細胞・ 前駆細胞の分析. 日本輪血学会誌, 40:737—743, 1994.
- 4) Page KM, Zhang L, Mendizabal A, et al: Total colony-forming units are a strong, independ predictor of neutrophil and platelet engraftment after unrelated umbilical cord blood transplantation: A single-center analysis of 435 cord blood transplants. Biol Blood Marrow Transplant, 17: 1362—1374, 2011.
- 5) Yoo KH, Lee SH, Kim HJ, et al: The impact of post-thaw colony-forming units-granulocyte/macropharge on engraftment following unrelated cord blood transplantation in pediatric recipients. Bone Marrow Transplant, 39: 515—521, 2007.
- Vannini N, Campos V, Girotra M, et al: The-NADbooster nicotinamide riboside potently stimulates hematopoiesis through increased mitochondrial clearance. Cell Stem Cell, 24: 405—418, 2019.
- Hogge DE, Lambie K, Sutherland HJ, et al: Quantitation of primitive and lineage-committed progenitors in mobilized peripheral blood for prediction of platelet recovery post autologous transplant. Bone Marrow Transplant, 25: 589—598, 2000.
- Skific M, Golemovic M: Colony-forming unit assay as a potency test for hematopoietic stem/progenitor cell products. Exp Biol Med, 2: 51—56, 2019.

- Mélanie Velier, Anne-Line Chateau, Carine Malenfant, et al: Validation of a semi automatic device to standardize quantification of Colony-Forming Unit (CFU) on hematopoietic stem cell products. Cytotherapy, 21: 820— 823, 2019.
- 10) Pamphilon D, Selogie E, McKenna DH, et al: Current practices and prospects for standardization of the hematopoietic colony-forming unit assay: A report by the cellular therapy team of the Biomedical Excellence for Safer Transfusion (BEST) Collaborative. Cytotherapy, 15: 255—262, 2013.
- Doulgkeroglou MN, Nubila AD, Niessing B, et al: Automation, monitoring, and standardization of cell product manufacturing. Front Bioeng Biotechnol, 8: 1—12, 2020.
- 12) Serke S, Arseniev L, Watts M, et al: Imprecision of counting CFU-GM colonies and CD34-expressing cells. Bone Marrow Transplant, 50: 57—61, 1997.
- 13) Chicaybam L, Barcelos C, Peixoto B, et al: An efficient electroporation protocol for the genetic modification of mammalian cells. Front Bioeng Biotechnol, 23: 1—13, 2017.
- 14) Belluschi S, Calderbank EF, Ciaurro V, et al: Myelolymphoid lineage restriction occurs in the human haematopoietic stem cell compartment before lymphoidprimed multipotent progenitors. Nat Commun, 9: 1—15, 2018
- 15) Yen J, Fiorino M, Liu Y: TRIAMF: A new method for delivery of Cas9 ribonucleoprotein complex to human hematopoietic stem cells. Sci Rep, 8: 1—11, 2018.
- 16) Verma R, Su S, McCrann DJ: RHEX, a novel regulator of human erythroid progenitor cell expansion and erythroblast development. J Exp Med, 211: 1715—1722, 2014.

EVALUATION OF AN AUTOMATED COLONY-COUNTING SYSTEM AS A STANDARD COLONY-FORMING ASSAY METHOD FOR CORD BLOOD BANKING

Nobuki Matsuyama¹⁾, Hirotaka Sakamoto¹⁾, Michiko Katsuda¹⁾, Akiko Ono¹⁾, Hiroyuki Ishii¹⁾, Takahiro Ichihara²⁾, Fumihiro Azuma²⁾, Fumiya Hirayama¹⁾, Yoshihiro Takihara¹⁾, Minoko Takanashi²⁾ and Takafumi Kimura¹⁾

Abstract:

Colony-forming unit (CFU) assay has been used as a regulatory quality test to predict the lympho-hematopoietic reconstitution ability of hematopoietic stem cells in umbilical cord blood units. Nevertheless, the reliability of the test results cannot always be assured because a degree of subjectivity cannot be completely excluded from the criteria used to judge the type and number of colonies on microscopy. To overcome this issue, we evaluated the availability of an automated hematopoietic colony-counter system STEMvisionTM by analyzing the correlation between CFU assay results as determined by two experienced technicians and those determined by this automated system. Stable equipment operation was confirmed through accuracy control using a precision control plate with embedded artificial colonies. We found extremely strong correlations between any two of the three results for total colony numbers (rs > 0.92, p < 1.0×10^{-39}) and strong correlations between those for numbers of colony-forming unit-granulocyte/macrophage (rs > 0.79, p < 1.6×10^{-30}). These results suggest that this automated colony-counter system may give assay results comparable to those with conventional microscopic visualization, and accordingly warrant consideration for introduction as a standard CFU assay method that enables precision control.

Keywords:

umbilical cord blood, colony-forming unit assay, automated colony-counter

©2021 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy Journal Web Site: http://yuketsu.jstmct.or.jp/

¹⁾Japanese Red Cross Kinki Block Blood Center

²⁾Japanese Red Cross Blood Service Headquarters