

どうやって培養するの？

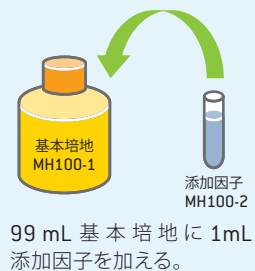
- ①培地調製 ②融解・播種 ③ Induction ④代謝試験 ⑤毒性試験

NoSpin HepaRG™ は BIOPREDIC International 社製造の成人肝機能のフェノタイプを有した肝セルラインです。ヒト初代肝臓細胞と関連した多くの特徴を持ち、初代細胞と同じ用途での使用が可能です。当細胞は細胞融解後の遠心およびセルカウントのステップを必要せず、CoA 記載の細胞数に基づいてプレートに播種するだけのスピーディーな実験構築を可能とします。各ロットは一貫した細胞数、生存率、機能性を有しています。初代肝臓細胞と同様に、増殖しない使い切りの細胞製品です。

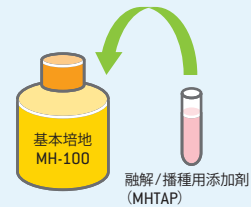
① NoSpin HepaRG™ 培地調製

完全培地の調製

基本培地の調製 (MH100)

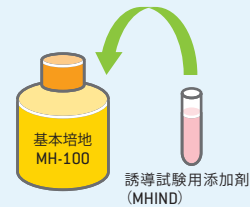


融解/播種用完全培地 (MH100 + MHTAP)



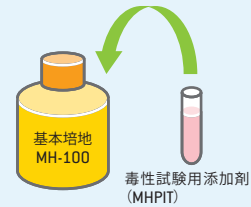
100 ml 調整済基本培地に添加剤を全量加える。

誘導試験用完全培地 (MH100 + MHIND)



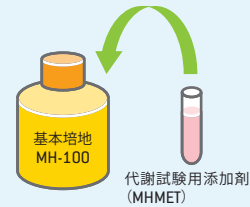
100 ml 調整済基本培地に添加剤を全量加える。

毒性試験用完全培地 (MH100 + MHPIT)



100 ml 調整済み基本培地に添加剤を加える。

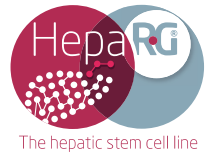
代謝試験用完全培地 (MH100 + MHMET)



100 ml 調整済み基本培地に添加剤を加える。

*調製後の使用期限：冷蔵保存 1 か月以内

NoSpin HepaRG 編



② 融解・播種

～従来の HepaRG™ 細胞と比較して2ステップを省略する融解・播種プロトコル～

NoSpin HepaRG™ 細胞

改良された凍結プロトコル
(凍結バイアルにつき 0.5 ml 細胞)
0.5 ml / 8 million cells / 10% DMSO

～改良された融解プロトコル～

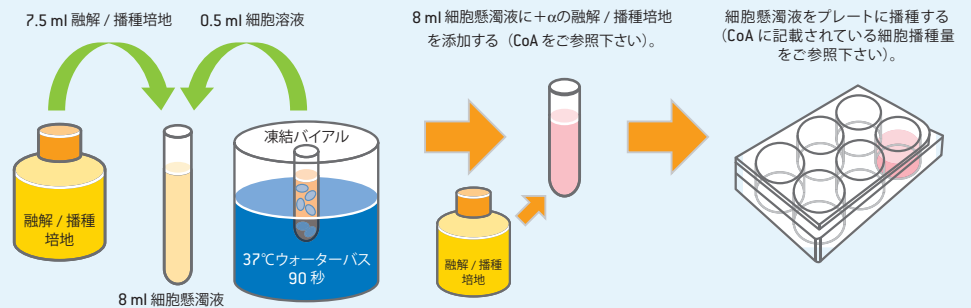
- 7.5ml の融解 / 播種培地で融解し、8ml 細胞懸濁液を調製する (8ml / 8 million cells / 0.5% DMSO)
- 遠心、セルカウントのステップを省略
- CoA の細胞播種量にそって、細胞をプレートに播種

従来の HepaRG™ 細胞

クラシカルな凍結プロトコル
(凍結バイアルにつき 1 ml 細胞)
1.0 ml / 8 million cells / 10% DMSO

～クラシカルな融解プロトコル～

- 9 ml の融解 / 播種培地で融解および細胞懸濁
- 遠心、Wash、再懸濁 (融解 / 播種培地 w/0.5%DMSO)
- セルカウント (Viability、収量を確認)
- 0.96 million cells / ml の細胞密度に調整後、細胞をプレートに播種



NoSpin HepaRG 細胞 Lot: HNS1001 の場合

| プレートタイプ | オリジナルの細胞懸濁液 8 ml に融解 / 播種培地を添加して、以下の容量にする | 1ウェル当たりの播種量 | 播種可能なウェル数 | 細胞数/ウェル |
|---------------|---|-------------|-----------|---------------------------|
| 6 well plate | 9.1 ml | 2 ml | 4 | 2x10 ⁶ cells |
| 12 well plate | 11.4 ml | 1 ml | 11 | 8x10 ⁵ cells |
| 24 well plate | 9.5 ml | 0.5 ml | 19 | 4.8x10 ⁵ cells |
| 48 well plate | 11.4 ml | 0.2 ml | 57 | 1.6x10 ⁵ cells |
| 96 well plate | 12.6 ml | 0.1 ml | 126 | 7.2x10 ⁴ cells |

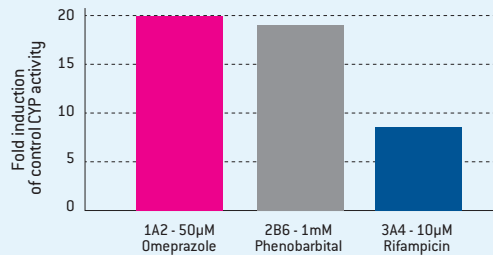
NoSpin HepaRG™ — 初代肝臓細胞のオルタナティブとして

- ▲ HepaRG™細胞は初代肝臓細胞より長期間の培養が可能です (初代細胞7日に対して21日間)
- ▲ CYP誘導試験やトランスポーター試験など多くの薬物動態アプリケーションに対応
- ▲ 同一ドナーのため、再現性の高い、一貫したデータを取得可能です
- ▲ **NoSpin** 細胞融解後、CoA記載の細胞数に基づいてプレートに播種するだけ

③ Induction

Induction 試験のタイムスケジュール

| Time | Procedure | Medium |
|-----------|---|---|
| 0 hours | 融解および細胞播種 | 融解 / 播種培地 (MH100 + MHTAP) |
| 6 hours | 融解 / 播種培地の除去 → 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium に培地交換 | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium (MH100 + MHPIT) |
| 72 hours | 毒性試験用培地 (Pre-induction/Tox medium) の除去 → Inducer 化合物を含む誘導試験用培地に交換 | 誘導試験用培地 (MH100 + MHIND) |
| 96 hours | Inducer 化合物を含む誘導試験用培地の培地交換 | 誘導試験用培地 (MH100 + MHIND) |
| 120 hours | Inducer 化合物を含む誘導試験用培地の除去 → 基質を含む誘導試験用培地に培地交換 | 誘導試験用培地 (MH100 + MHIND) |



NoSpin HepaRG™ における CYP 1A2 2B6 3A4誘導試験

オーダー情報

| 製品番号 | 製品名 | サイズ | 定価 (円) |
|--------|--------------------|-----------------------|--------|
| NSHPRG | NoSpin HepaRG 細胞 | > 8 x 10 ⁶ | 71,000 |
| MH100 | HepaRG 基本培地 | 100 ml | 15,000 |
| MHTAP | HepaRG 融解 / 播種用添加剤 | 1 Kit | 15,000 |
| MHIND | HepaRG 誘導試験用添加剤 | 1 Kit | 15,000 |
| MHPIT | HepaRG 毒性試験用添加剤 | 1 Kit | 15,000 |
| MHMET | HepaRG 代謝試験用添加剤 | 1 Kit | 15,000 |

*各添加剤を HepaRG 基本培地 (MH100) に添加して、ご利用いただけます

④ 代謝試験

代謝試験のタイムスケジュール

| Time | Procedure | Medium |
|----------|-----------------------------|---------------------------|
| 0 hours | 融解および細胞播種 | 融解 / 播種培地 (MH100 + MHTAP) |
| 24 hours | 融解 / 播種培地の除去 → 代謝試験用培地に培地交換 | 代謝試験用培地 (MH100 + MHMET) |
| 96 hours | テスト化合物を含む代謝試験用培地に培地交換 | 代謝試験用培地 (MH100 + MHMET) |

⑤ 毒性試験

毒性試験のタイムスケジュール

| Time | Procedure | Medium |
|-----------|--|---|
| 0 hours | 融解および細胞播種 | 融解 / 播種培地 (MH100 + MHTAP) |
| 24 hours | 融解 / 播種培地の除去 → 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium に培地交換 | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium (MH100 + MHPIT) |
| 96 hours | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium の培地交換 | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium (MH100 + MHPIT) |
| 144 hours | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium の培地交換 | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium (MH100 + MHPIT) |
| 168 hours | テスト化合物を含む毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium に培地交換 | 毒性試験用培地: Pre-induction/Tox medium (MH100 + MHPIT) |

* NoSpin HepaRG™ 培地には抗生物質は含まれておりません。長期間の培養においては抗生物質の添加をお奨め致します。
<ご参考製品: ペニシリン・ストレプトマイシン溶液 SIGMA-ALDRICH P0781 >



ロンザジャパン株式会社

バイオサイエンス事業部

〒104-6591 東京都中央区明石町8-1 聖路加タワー 39階

セールス TEL: 03-6264-0660
E-mail: bioscience.sales.jp@lonza.com

技術サポート TEL: 03-6264-0663
E-mail: bioscience.technicalsupport.jp@lonza.com

受注・在庫照会 TEL: 03-6264-0620

<http://www.lonzabio.jp>