Lonza

Pharma & Biotech

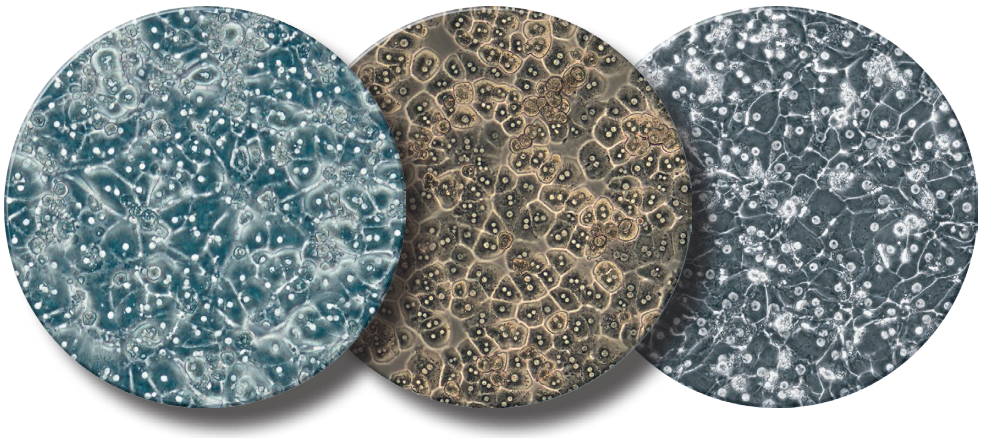
2021 Summer

ADMETox 製品ガイド

Primary Human Hepatocytes
Primary Animal Hepatocytes
NoSpin HepaRG™ Cells
Hepatic Non-Parenchymal Cells

The Importance of *In Vitro* ADME and Toxicity Studies in Drug Discovery and Development

医薬品の吸収、分布、代謝、排泄および毒性（ADMETox）を理解することは、創薬研究の重要な要素です。これらの研究によって、化合物の安全性および有効性を含め、体内での薬物動態に対する洞察が得られます。創薬プロセスにおいて、*in vitro* ADMETox データを可能な限り早期に得ることには多くの利点があります。開発初期に ADMETox 試験から得られた結果は、ある化合物が良好なバイオアベイラビリティを有するかどうかについての貴重な指標を提供し、薬剤候補が ADME の特性を満たさないか、または毒性であるという徴候を示す場合には、後の臨床段階におけるドロップアウトを回避するのに役立ちます。また、前臨床医薬品開発段階での ADMETox 試験における重要な課題の一つは、臨床用途に適用できる試験モデルを構築することです。前臨床 ADMETox 研究において動物モデルは、依然として最も重要なツールの一つですが、一方でヒト初代肝臓細胞などの *in vitro* 試験系は、創薬パイプラインにおける意思決定にとってますます重要なツールとなっています。



目次

肝臓細胞製品リスト Page 3

接着型ヒト肝臓細胞 Page 4

DonorPlex ™ 浮遊型ヒトプールド肝臓細胞 Page 5

ヒト肝セルライン NoSpin HepaRG ™ 細胞 Page 6

動物肝臓細胞 Page 7

肝 非実質細胞 Page 8, 9

誘導試験プロトコル Page 10

代謝試験 技術資料 Page 11

弊社ヒト初代細胞は、健常なドナーから単離された細胞です。すべてのドナーは FDA（米国食品医薬品局）認定の手法を用いて、HIV-1、2、B 型および C 型肝炎ウイルス陰性であることを確認済みです。ドナーの検査が実施できない場合、細胞製品は HIV, B 型および C 型肝炎ウイルスのウイルスゲノムの有無が検査されます。製品のご利用は研究用途に限定されます。
弊社ヒト初代細胞製品のリソース入手にあたっては、各種の法律に基づいたインフォームドコンセントが取得されています。また、個人情報の連結不可能匿名化がなされた製品です。

肝臓細胞製品リスト

ロンザは、ご研究用途に応じた幅広い肝臓細胞製品ラインナップを取り揃えています。また、関連培地として融解培地・播種培地・メンテナンス培地の 3 種類をご用意しております。

ロットご評価期間における**ロットリザーブ**を積極的に承っております。ロット情報・在庫情報などお気軽に弊社までお問合せ下さい。

アプリケーション

- ■ 薬物代謝酵素阻害試験 – DonorPlex ™ を推奨
- ■ CYP 誘導試験 – HUCPI を推奨
- ■トランスポーター試験 – HUCPI を推奨
- ■ 毒性試験　■ 肝ヒト化動物モデル作製
- ■ 臓器再生研究　■ 肝炎・肝繊維化研究

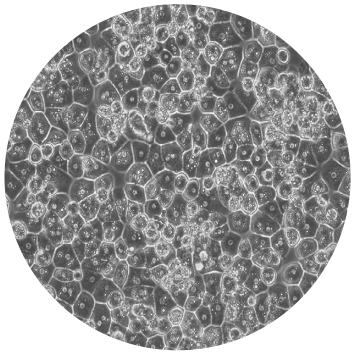
		カタログ番号	ドナー	細胞数(個)	定価(円:税抜)	融解培地	播種培地	メンテナンス培地
ヒト	接着	HUCPI	単一	≥5.0 x 10^6	150,000	MCHT50	MP100 / MP250	CC-3198
		HUCPG	単一	≥5.0 x 10^6	135,000	MCHT50	MP100/MP250	CC-3198
	浮遊	HUCS10P	10ドナー	≥5.0 x 10^6	100,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCS10PF	女性、10ドナー	≥5.0 x 10^6	100,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCS10PM	男性、10ドナー	≥5.0 x 10^6	100,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCS20P	20ドナー	≥5.0 x 10^6	110,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCS20PF	女性、20ドナー	≥5.0 x 10^6	110,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCS20PM	男性、20ドナー	≥5.0 x 10^6	110,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCS50P	50ドナー	≥5.0 x 10^6	120,000	MCHT50P	—	CC-3198
		HUCSD	単一	≥5.0 x 10^6	62,500	MCHT50P	—	CC-3198
ヒト肝セルライン	接着	NSHPRG	単一	≥8.0 x 10^6	71,000	MH100, MHTAP	MH100, MHTAP	MH100 MHIND / MHPIT / MHMET
マウス	接着	MCCP01	複数(CD-1)	≥5.0 x 10^6	90,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
		MBCP01	複数(C57Bl/6)	≥5.0 x 10^6	90,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
		MXCP01	複数(B6C3F1)	≥5.0 x 10^6	90,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
	浮遊	MCCS01	複数(CD-1)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	—	CC-3198
		MBCS01	複数(C57Bl/6)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	—	CC-3198
		MXCS01	複数(B6C3F1)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	—	CC-3198
ラット	接着	RICP01	複数(Wistar)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
		RSCP01	複数(SD)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
		RWCP01	複数(WH)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
	浮遊	RICS01	複数(Wistar)	≥5.0 x 10^6	50,000	MCRT50	—	CC-3198
		RSCS01	複数(SD)	≥5.0 x 10^6	50,000	MCRT50	—	CC-3198
		RWCS01	複数(WH)	≥5.0 x 10^6	50,000	MCRT50	—	CC-3198
サル	接着	CYCP01	単一(カニクイザル)	≥5.0 x 10^6	125,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
		RHCP01	単一(アカゲザル)	≥5.0 x 10^6	125,000	MCRT50	MP100 / MP250	CC-3198
	浮遊	CYCS01	単一(カニクイザル)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	—	CC-3198
		RHCS01	単一(アカゲザル)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCRT50	—	CC-3198
イヌ	接着	DBCP01	単一 / 複数(ビーグル)	≥5.0 x 10^6	95,000	MCAT50	MP100 / MP250	CC-3198
	浮遊	DBCS01	単一 / 複数(ビーグル)	≥5.0 x 10^6	70,000	MCAT50	—	CC-3198
ウサギ	浮遊	NZCS01	単一(NZ White)	≥5.0 x 10^6	90,000	MCAT50	—	CC-3198

融解培地

ロンザは、肝臓細胞タイプ毎に最適化された複数の融解培地（MCHT50、MCHT50P、MCRT50、MCAT50）を扱っています。ロンザの融解培地は、高い Cell Viability を維持できると多くのお客様からご評価を頂いています。

接着型ヒト肝臓細胞

ロンザ凍結ヒト肝臓細胞の全ロットにおいて、解凍後の**生存率**（>80%）および**細胞数**を確認しています。
HUCPI は代表的な CYP 誘導薬による**誘導試験**データ**（mRNA レベルおよび酵素活性）**および**トランスポーター（取込と排出）**データを細胞購入前に、ロット毎の試験成績書〔CoA〕で確認可能です。また **7 日間の培養が可能**なことを確認済みです。
HUCPG はリーズナブルな価格にて、全般的な研究用途に利用できます。また **5 日間の培養が可能**なことを確認済みです。
どちらの製品も**代謝試験**データが入手可能であり、また**スフェロイド形成能**および **96 ウェルプレートでの培養**が可能なことを確認しています。



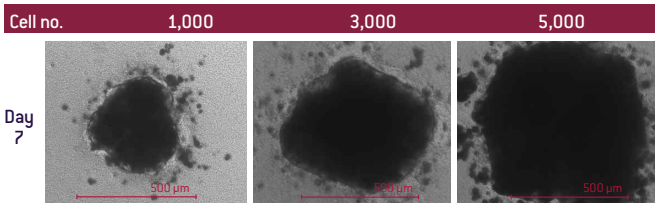
接着型ヒト肝臓細胞

接着型ヒト肝臓細胞（酵素誘導試験用）カタログ番号HUCPI　試験項目

細胞生存率 >80%	細胞数	スフェロイド形成能	7 日間培養可	96 ウェル培養可
CYP 1A2 誘導試験 mRNA	CYP 2B6 誘導試験 mRNA	CYP3A4 誘導試験 mRNA	CYP2C8 誘導試験 mRNA	
CYP 1A2 誘導試験 酵素活性	CYP 2B6 誘導試験 酵素活性	CYP 3A4 誘導試験 酵素活性		
トランスポーター試験 Uptake: OAT1B1/3, OCT-1/2, NTCP　Efflux: BSEP				
クリアランス試験（接着） CYP2C9, 2D6, 3A4	クリアランス試験（浮遊） CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4（M）, 34A（T）			
ECOD 第 1 相（CYPs）	7-HCS, 7HCS 第 2 相（SULT, UGT）			

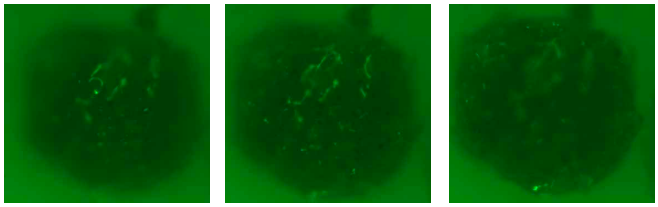
接着型ヒト肝臓細胞（代謝試験用）カタログ番号HUCPG　試験項目

細胞生存率 >80%	細胞数	スフェロイド形成能	5 日間培養可	96 ウェル培養可
クリアランス試験（接着） CYP2C9, 2D6, 3A4	クリアランス試験（浮遊） CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4（M）, 34A（T）			
ECOD 第 1 相（CYPs）	7-HCS, 7HCS 第 2 相（SULT, UGT）			



スフェロイド形成能

ロンザの接着型ヒト肝臓細胞（HUCPI および HUCPG）は、ロット毎に超低接着表面プレートにおけるスフェロイド形成能の確認を行っています。



胆細管形成の確認

ヒト肝臓細胞から形成されたスフェロイドに対して、Cholyl-lysyl-fluorescein（CLF）蛍光染色を行い、スフェロイド内の胆細管の可視化を行いました。上記画像 3 点は 3 次元胆細管ネットワークを垂直軸に異なる位置で観察しました。
＊ロット毎の胆細管形成確認は行っておりません

オーダー情報

	カタログ番号	製品名	ドナー	細胞数（個）/容量	定価（円：税抜）
接着型細胞	HUCPI	接着型ヒト肝細胞（酵素誘導試験用）	単一	≥5.0 x 10^6	150,000
	HUCPG	接着型ヒト肝細胞（代謝試験用）	単一	≥5.0 x 10^6	135,000
融解培地	MCHT50	ヒト肝細胞用 融解培地（単一ドナー用）	—	培地50ml	10,000
播種培地	MP100	肝細胞 播種培地（接着用）セット	—	培地100ml / 添加因子	10,000
	MP250	肝細胞 播種培地（接着用）セット	—	培地250ml / 添加因子	20,000
メンテナンス培地	CC-3198	HCM™ – 肝細胞培養培地BulletKit™	—	培地500ml / 添加因子	28,500

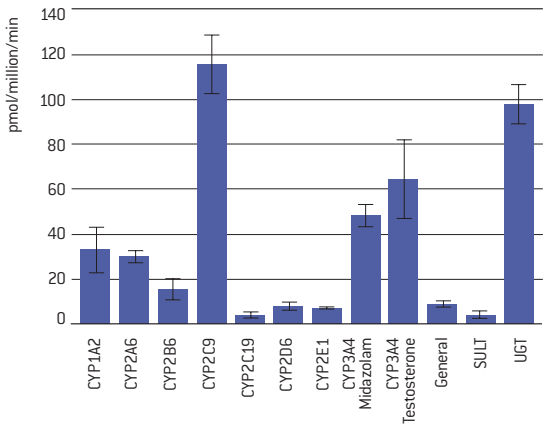
【保存条件】細胞：−180 ℃、培地：2〜8 ℃、添加因子：−20 ℃
＊凍結肝臓細胞製品は品質保持のためドライシッパーにてお届けします

DonorPlex™ 浮遊型 ヒトプールド肝臓細胞

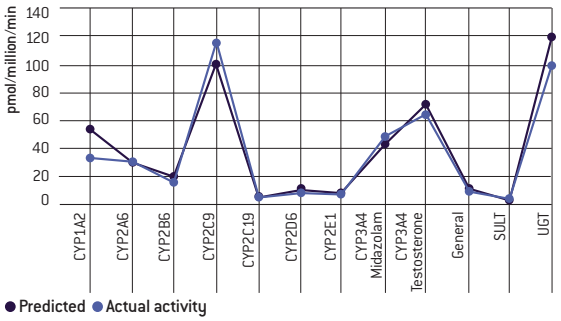
DonorPlex ™ は **10**、**20** および **50 ドナー**のラインナップを揃えたヒトプールド浮遊肝臓細胞です。全ロットにおいて、**代謝試験**および**トランスポーター試験**データを試験成績書〔CoA〕で確認可能です。トランスポーターを含む包括的な薬物代謝阻害試験ツールとしてDonorPlex ™をお奨めします。**DonorPlex ™ カスタムバッチ作製サービス**では独自の代謝予測アルゴリズムにより、製造ロットが変わっても一貫性のある代謝プロファイルを持つ新ロットをご提供することが可能です。

DonorPlex™ ヒトプールド浮遊肝臓細胞　試験項目

- 細胞生存率 >80%
- 細胞数
- トランスポーター試験 Uptake :OATP1B1/3, OCT1/2, NTCP
- クリアランス試験（浮遊） CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4（M）, 34A（T）
- ECOD 第 1 相（CYPs）
- 7-HCS, 7HCS 第 2 相（SULT, UGT）



DonorPlex ™ の薬物代謝プロファイルの安定性を示しています。同一ドナー群から構成される 3 バッチを異なる時期に製造したにも関わらず、3 バッチ間で再現性の高いプロファイルが得られています。



DonorPlex ™ 製造で使用されている代謝予測アルゴリズムの有用性を示しています。8 つの CYP 酵素および第 2 相反応における予測値と実際の酵素活性が近似しています。

DonorPlex™ カスタムバッチ作製サービス

代謝予測アルゴリズムを利用して、お客様のご要望に応じた薬物代謝プロファイルを持つ DonorPlex ™ ヒト浮遊肝臓細胞をカスタム作製します。下記のステップで、テストバッチのご評価→スケールアップなどのカスタム対応が可能です。詳細については、弊社までお問合せ下さい。

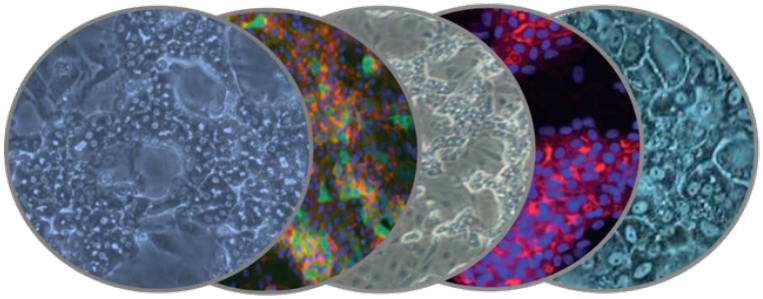
バッチデザイン → お客様の承認 → 評価用バッチ作製（5-10 vials） → お客様のバッチ評価 → スケールアップ

オーダー情報

	カタログ番号	製品名	ドナー	細胞数（個）/容量	定価（円：税抜）
浮遊型細胞	HUCS10P	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（10ドナー）	複数、10ドナー	≥5.0 x 10^6	100,000
	HUCS10PF	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（女性10ドナー）	複数女性、10ドナー	≥5.0 x 10^6	100,000
	HUCS10PM	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（男性10ドナー）	複数男性、10ドナー	≥5.0 x 10^6	100,000
	HUCS20P	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（20ドナー）	複数、20ドナー	≥5.0 x 10^6	110,000
	HUCS20PF	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（女性20ドナー）	複数女性、20ドナー	≥5.0 x 10^6	110,000
	HUCS20PM	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（男性20ドナー）	複数男性、20ドナー	≥5.0 x 10^6	110,000
	HUCS50P	DonorPlex™ 浮遊型ヒト肝細胞（50ドナー）	複数、50ドナー	≥5.0 x 10^6	120,000
	HUCSD	浮遊型ヒト肝細胞（シングルドナー）	単一	≥5.0 x 10^6	62,500
融解培地	MCHT50P	ヒト肝細胞用 融解培地（複数ドナー用）	—	培地50ml	10,000
メンテナンス培地	CC-3198	HCM™ – 肝細胞培養培地BulletKit™	—	培地500ml / 添加因子	28,500

【保存条件】細胞：−180 ℃、培地：2〜8 ℃、添加因子：−20 ℃
＊凍結肝臓細胞製品は品質保持のためドライシッパーにてお届けします

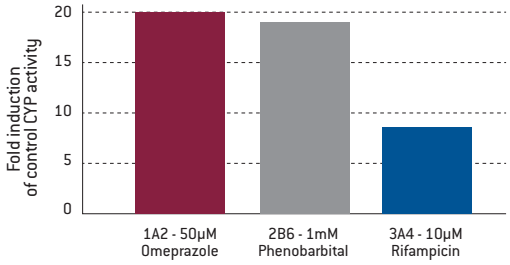
NoSpin HepaRG™ 細胞



The hepatic stem cell line

NoSpin HepaRG ™細胞は 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相関した多くの特徴を持ち、初代肝臓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、試験成績書〔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。

- 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 日間に対して 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
- セルラインのため、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、試験成績書〔CoA〕記載の細胞数に基づいてプレートに播種するだけの簡便性



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

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～

① 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

② 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

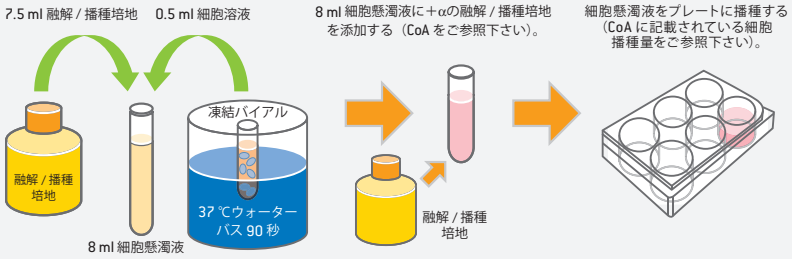
～クラシカルな融解プロトコル～

① 9 ml の融解 / 播種培地で融解および細胞懸濁

② 遠心、Wash、再懸濁

③ セルカウント（Viability、収量を確認）

④ 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

オーダー情報

	カタログ番号	製品名	細胞数（個）/ 容量	定価（円：税抜）
接着型細胞株	NSHPRG	NoSpin HepaRG™ 細胞	≥8.0 x 10^6	71,000
基本培地	MH100	HepaRG™ 基本培地	培地100ml / 添加因子	15,000
融解/播種	MHTAP	HepaRG™ 融解/播種用添加剤	1 Kit	15,000
誘導試験	MHIND	HepaRG™ 誘導試験用添加剤	1 Kit	15,000
毒性試験	MHPIT	HepaRG™ 毒性試験用添加剤	1 Kit	15,000
代謝試験	MNMET	HepaRG™ 代謝試験用添加剤	1 Kit	15,000

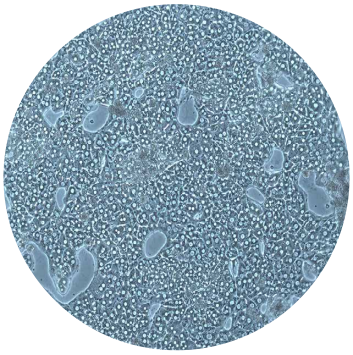
【保存条件】細胞：－180 ℃、培地：2～ 8 ℃、添加因子：－20 ℃

動物肝臓細胞

ロンザは、ご研究用途に応じた幅広い動物種の肝臓細胞製品ラインナップを取り揃えています。凍結動物肝臓細胞の全ロットにおいて、解凍後の**生存率（>80%）**および**細胞数**を確認しています。また**第 1 相として CYPs 全般、第 2 相として SULT、UGT** の薬物代謝酵素活性を測定しています。

動物肝臓細胞　試験項目

- 細胞生存率 >80%
- 細胞数
- スフェロイド形成能
- ECOD 第 1 相（CYPs）
- 7-HCS, 7HCS 第 2 相（SULT, UGT）



接着型ラット肝臓細胞

オーダー情報

* サル由来肝細胞：CITES輸出許可に適合しないロットの国内輸入は不可となります
* イヌ由来肝細胞：健康証明書の発行のため国内取寄せにお時間がかかります

	カタログ番号	製品名	ドナー	細胞数（個）/容量	定価（円：税抜）
接着型マウス	MCCP01	接着型マウス肝細胞（CD-1）	複数	≥5.0 x 10^6	90,000
	MBCP01	接着型マウス肝細胞（C57Bl/6）	複数	≥5.0 x 10^6	90,000
	MXCP01	接着型マウス肝細胞（B6C3F1）	複数	≥5.0 x 10^6	90,000
接着型ラット	RICP01	接着型ラット肝細胞（Wistar）	複数	≥5.0 x 10^6	70,000
	RSCP01	接着型ラット肝細胞（SD）	複数	≥5.0 x 10^6	70,000
	RWCP01	接着型ラット肝細胞（WH）	複数	≥5.0 x 10^6	70,000
接着型サル	CYCP01	接着型サル肝細胞（カニクイザル）	単一	≥5.0 x 10^6	125,000
	RHCP01	接着型サル肝細胞（アカゲザル）	単一	≥5.0 x 10^6	125,000
融解培地	MCRT50	動物肝細胞用 融解培地（げっ歯類用）	—	培地50ml	12,000
播種培地	MP100	肝細胞 播種培地（接着用）セット	—	培地100ml / 添加因子	10,000
	MP250	肝細胞 播種培地（接着用）セット	—	培地250ml / 添加因子	20,000
メンテナンス培地	CC-3198	HCM™ – 肝細胞培養培地BulletKit™	—	培地500ml / 添加因子	28,500
接着型イヌ	DBCP01	接着型イヌ肝細胞（ビーグル）	単一 / 複数	≥5.0 x 10^6	95,000
融解培地	MCAT50	動物肝細胞用 融解培地（げっ歯類除く）	—	培地50ml	12,000
播種培地	MP100	肝細胞 播種培地（接着用）セット	—	培地100ml / 添加因子	10,000
	MP250	肝細胞 播種培地（接着用）セット	—	培地250ml / 添加因子	20,000
メンテナンス培地	CC-3198	HCM™ – 肝細胞培養培地BulletKit™	—	培地500ml / 添加因子	28,500

	カタログ番号	製品名	ドナー	細胞数（個）/容量	定価（円：税抜）
浮遊型マウス	MCCS01	浮遊型マウス肝細胞（CD-1）	複数	≥5.0 x 10^6	70,000
	MBCS01	浮遊型マウス肝細胞（C57Bl/6）	複数	≥5.0 x 10^6	70,000
	MXCS01	浮遊型マウス肝細胞（B6C3F1）	複数	≥5.0 x 10^6	70,000
浮遊型ラット	RICS01	浮遊型ラット肝細胞（Wistar）	複数	≥5.0 x 10^6	50,000
	RSCS01	浮遊型ラット肝細胞（SD）	複数	≥5.0 x 10^6	50,000
	RWCS01	浮遊型ラット肝細胞（WH）	複数	≥5.0 x 10^6	50,000
浮遊型サル	CYCS01	浮遊型サル肝細胞（カニクイザル）	単一	≥5.0 x 10^6	70,000
	RHCS01	浮遊型サル肝細胞（アカゲザル）	単一	≥5.0 x 10^6	70,000
融解培地	MCRT50	動物肝細胞用 融解培地（げっ歯類用）	—	培地50ml	12,000
メンテナンス培地	CC-3198	HCM™ – 肝細胞培養培地BulletKit™	—	培地500ml / 添加因子	28,500
浮遊型イヌ	DBCS01	浮遊型イヌ肝細胞（ビーグル）	単一 / 複数	≥5.0 x 10^6	70,000
浮遊型ウサギ	NZCS01	浮遊型ウサギ肝細胞（NZ White）	単一	≥5.0 x 10^6	90,000
融解培地	MCAT50	動物肝細胞用 融解培地（げっ歯類除く）	—	培地50ml	12,000
メンテナンス培地	CC-3198	HCM™ – 肝細胞培養培地BulletKit™	—	培地500ml/添加因子	28,500

【保存条件】細胞：−180 ℃、培地：2〜8 ℃、添加因子：−20 ℃
＊凍結肝臓細胞製品は品質保持のためドライシッパーにてお届けします

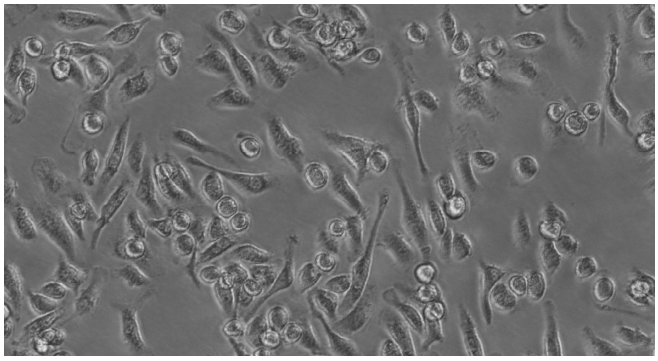
肝 非実質細胞

より複雑な*in vitro* 肝臓培養モデルの構築に向けて

ロンザはヒト初代肝臓細胞の他に肝非実質細胞として、ヒト肝星細胞、肝クッパー細胞、肝臓由来内皮細胞をご提供します。これらの非実質細胞の使用により、more physiologically relevant な肝臓培養モデルを構築することが可能です。

肝クッパー細胞（Hepatic Kupffer Cells）

クッパー細胞はマクロファージの一種で、肝組織における細菌や毒物からの防御反応を司ります。クッパー細胞は典型的なマクロファージ形態を示し、活性化により炎症性サイトカインや増殖因子の生産を開始します。クッパー細胞の長期間に亘る活性化はしばしば 非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）や非アルコール性脂肪肝炎（NASH）、また化学物質による肝傷害に関連付けがなされます。
単離されたクッパー細胞は播種時の形態情報や Lipopolysaccharide（LPS）刺激による応答性データをロット毎に試験成績書〔CoA〕で確認可能です。クッパー細胞は 10% FBS を添加した RPMI 培地により維持されます。



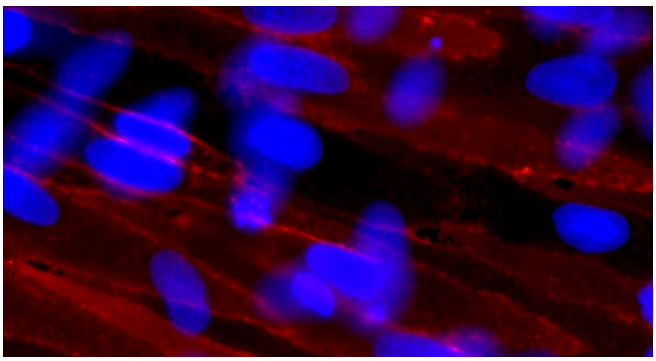
クッパー細胞の明視野イメージ

LPS induction response	24 hours in culture	72 hours in culture
Morphology	■	
INF-γ	■	■
IL-10	■	■
IL-13	■	■
IL-1β	■	■
IL-6	■	■
IL-8	■	■
TNF-α	■	■

LPSに対する応答性（ロット毎の数値化した情報をご提供しています）

ヒト肝臓由来内皮細胞（Human Liver-derived Endothelial Cells）

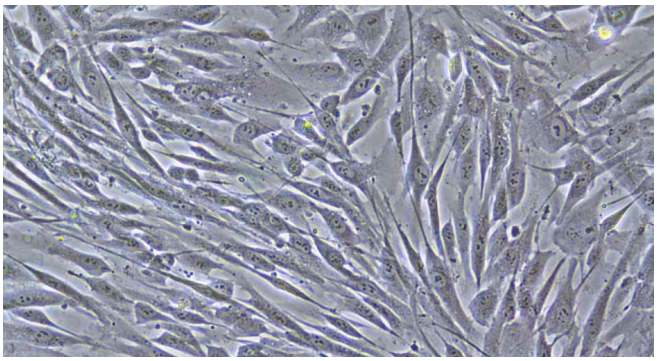
肝組織において、内皮細胞は血管や類洞に隣接して、これらの構造を保持する役割を果たします。
ロンザの肝内皮細胞は CD3、CD32b、vWF、LYVE-1 の内皮細胞マーカーにより品質保証され、限られた継代の範囲内で内皮細胞の形態を維持します。



CD31抗体によるヒト肝内皮細胞の染色

ヒト肝非実質細胞（Human Liver NPCs）

当製品はヒト肝臓由来の非実質細胞各種の混合物です。ロット毎に細胞タイプの割合は異なります。

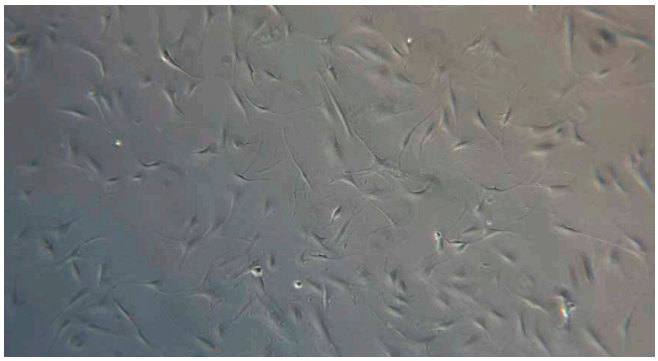


ヒト肝内皮細胞の明視野イメージ

肝 非実質細胞

肝 星細胞（Hepatic Stellate Cells）

星細胞は肝臓において主にレチノイドを蓄積する働きを持ちます。肝傷害の応答として、星細胞は蓄積されたレチノイドを失い、コラーゲンマトリックスを蓄える線維芽細胞様の細胞に分化し、最終的に肝硬変へと至ります。
星細胞はプレート播種後、直ちに活性化状態に遷移します。
当細胞製品は Passage1 の状態で凍結保存されています。品質チェックとして、星細胞の形態確認および Vinculinm、Vimentin また α-SMA のフローサイトメトリーによる確認が実施されています。



星細胞の明視野イメージ

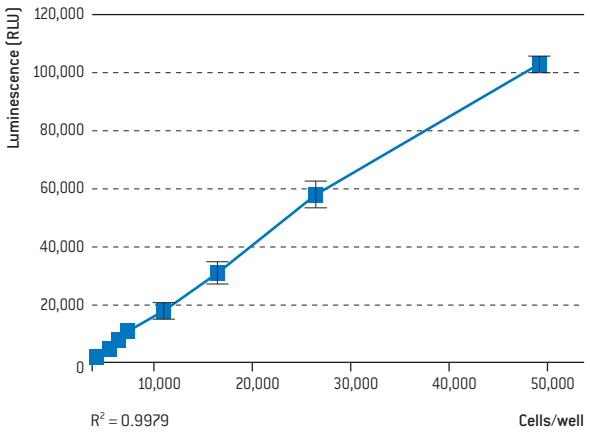
オーダー情報

	カタログ番号	製品名	ドナー	細胞数（個）/容量	定価（円：税抜）
クッパー細胞	HLKC	HKC - 肝クッパー細胞	単一	≥1.0 x 10^5	254,000
	12-702Q	RPMI 1640培地 *別途10%FBSを添加	—	1L	7,500
星細胞	HUCLS	ヒト肝 星細胞	単一	≥1.0 x 10^5	50,000
	HUCLS1	ヒト肝 星細胞	単一	≥1.0 x 10^6	400,000
	MCST250	肝 星細胞用増殖培地	—	250ml	12,500
肝 内皮細胞	HLECP2	HLEC - ヒト肝臓由来内皮細胞	単一	≥1.0 x 10^5	258,000
	CC-3162	RPMI 1640培地 *別途10%FBSを添加	—	培地500ml / 添加因子	23,000
非実質細胞	HUCNP	ヒト肝非実質細胞	単一	≥1.0 x 10^6	50,000

【保存条件】細胞：−180 ℃、培地：2〜 8 ℃、添加因子：−20 ℃

細胞毒性試験キット，ToxiLight™ Non-Destructive Cytotoxicity BioAssay Kit

ToxiLight ™ バイオアッセイキットは、ルシフェラーゼ発光反応を利用して細胞毒性を高感度に検出することができます。LDH 法の代替アッセイ法としてお奨めします。
培地上清を回収すれば、貴重な初代肝臓細胞を破壊することなく継時的な毒性試験が実施可能です。



ToxiLight™ バイオアッセイキットは10細胞まで検出可能

オーダー情報

カタログ番号	製品名	サイズ	定価（円：税抜）
LT07-217	ToXiLight™ 非破壊細胞毒性アッセイ	500回	55,000
LT07-117	ToXiLight™ 非破壊細胞毒性アッセイ	1,000回	98,000

【保存条件】培地：2〜 8 ℃

— 技術資料 1 —　ヒト初代肝臓細胞 CYP誘導試験プロトコル

本資料は代表的な CYP 誘導薬による CYP1A2、2B6、3A4 の活性誘導プロトコル抜粋資料です。

必要な試薬

- 接着型ヒト肝臓細胞 (HUCPI)
- 融解培地 (MCHT50)
- 播種培地 (MP100)
- メンテナンス培地 (CC-3198)

誘導薬ストック(DMSOに溶解)

- Omeprazole (50mM)
- Phenobarbital (1mM)
- Rifampicin (10mM)

基質ストック(DMSOに溶解)

- Phenacetin (100mM)
- Bupropion (250mM)
- Testosterone (200mM)

DAY 0

1. 弊社肝臓細胞培養インストラクションに基づいて、24ウェルプレートにてヒト肝臓細胞のマトリックス (サンドイッチ) 培養系を作製する。[500µlメンテナス培地/well, 5x10^5 cells/well]

DAY 1

2. 各誘導薬ストック溶液およびコントロールのDMSOを、予め37℃に温めたHCM™ 培地で1,000倍に希釈し、誘導用培地とする。

3. [CYPの誘導] 肝臓細胞を培養しているプレートの全ウェルからHCM™ 培地を吸引し、2で調製した誘導用培地500µlに置換する。(図1プレートレイアウト例を参照)

	1	2	3	4	5	6
A	Control (DMSO only)			OMZ (1A2)	PHB (2B6)	RIF (3A4)
B						
C						
D						

図1. CYP誘導薬添加 24ウェル プレートレイアウト例

DAY 2-3

4. DAY2とDAY3に、3の誘導用培地 置換ステップを繰り返す。

5. [酵素アッセイ] 3種類の基質 (PHE、BUP、TST) ストック溶液を、37℃に温めたHCM™ 培地で1,000倍に希釈し、基質溶液を調製する。

DAY 4

6. 肝臓細胞を培養しているプレートの全ウェルからHCM™ 培地を吸引し、 37℃に温めたHCM™ 培地で細胞を洗浄する。

7. 1ウェル当り300µlの基質溶液に置換する。(図2プレートレイアウト例を参照)

	Control (DMSO only)			OMZ (1A2)	PHB (2B6)	RIF (3A4)
	1	2	3	4	5	6
A	PHE (1A2)	BUP (2B6)	TST (3A4)	PHE (1A2)	BUP (2B6)	TST (3A4)
B						
C						
D						
	15分	20分	15分	15分	20分	15分
	インキュベーション時間					

図2. CYP基質添加 24ウェルプレートレイアウト例

8. 基質溶液に置換後、すみやかに37℃ CO2インキュベーターに設置したオービタルシェーカー上にプレートを置く。プレートは95 rpmで振とうし、図2に記載されたインキュベーション時間に従って反応を行う。

9. 反応が終了したら、ウェル内の反応溶液250µlをドライアイス上においた96ウェルプレートに移し、反応を停止する。ドライアイスの代わりに停止溶液を使用しても良い。

10. 反応停止した溶液を用いて、LC-MS分析による代謝産物測定を行う。

11. [CYP発現解析 (mRNA定量)] PBS等で細胞を洗浄後、RNA抽出およびCYP発現解析を行う。

— 技術資料 2 —　浮遊型ヒト初代肝臓細胞 代謝試験資料

表1. 代謝試験における基質および至適インキュベーション時間

Enzyme	Substrate	Final [Substrate] (μM)	Metabolism Marker	Sample Time (minutes)
CYP1A2	Phenacetin	100	Phenacetin Odealkylation	15
CYP2A6	Coumarin	50	Coumarin 7-hydroxylation	15
CYP2B6	Bupropion	500	Bupropion hydroxylation	15
CYP2C8	Amodiaquine	20	Amodiaquine N-dealkylation	30
CYP2C9	Diclofenac	25	Diclofenac 4'-hydroxylation	15
CYP2C19	Mephenytoin	250	S-Mephenytoin 4'-hydroxylation	30
CYP2D6	Dextromethorphan	15	Dextromethorphan O-demethylation	15
CYP2E1	Chlorzoxazone	250	Chlorzoxazone 6-hydroxylation	15
CYP3A4/5	Testosterone	200	Testosterone 6β-hydroxylation	15
CYP3A4/5	Midazolam	20	Midazolam 1'-hydroxylation	15
CYP General	7-Ethoxycoumarin	100	7-Hydroxycoumarin	30
UGT	7-Ethoxycoumarin	100	7-Hydroxycoumarin glucuronidation	30
SULT	7-Ethoxycoumarin	100	7-Hydroxycoumarin sulfonation	30
UGT	7-Hydroxycoumarin	100	7-Hydroxycoumarin glucuronidation	30
SULT	7-Hydroxycoumarin	100	7-Hydroxycoumarin sulfonation	30
Aldehyde Oxidase	Zoniporide	25	2-oxozoniporide	15

Lonza

Pharma & Biotech

ロンザ株式会社

バイオサイエンス事業部

http://www.lonzabio.jp/

RES-LF2105-01