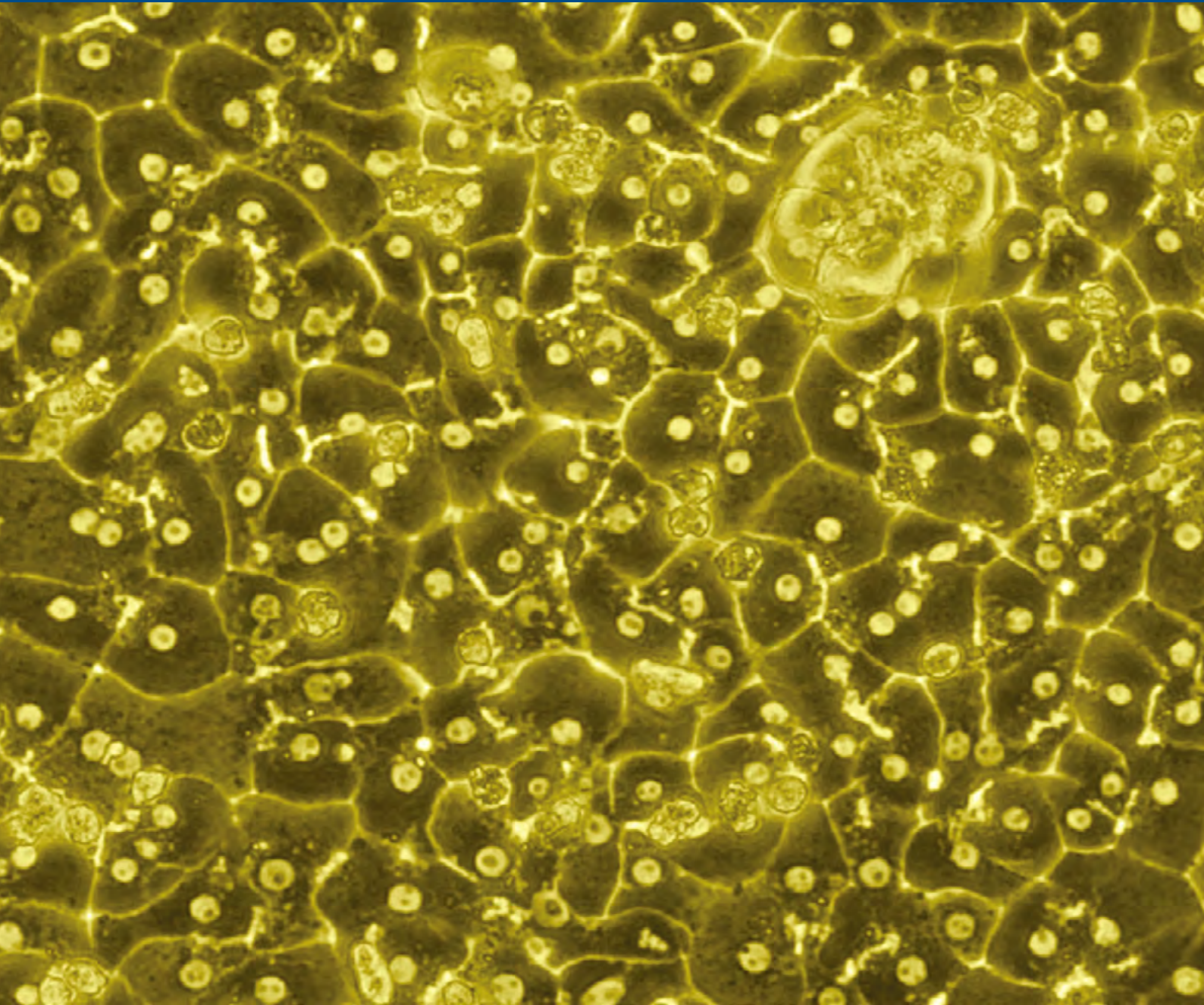


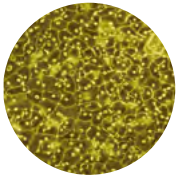
gibco



# No Standard Like a Gold Standard

ADME/Tox 製品およびサービス

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC



## ADME/Tox 製品およびサービス

サーモフィッシャーサイエンティフィックでは、お客様が研究対象の化合物に関して正しく判断していただけるように、生理学的に関与する結果を生む、業界最高レベルの ADME/Tox 製品の提供を目指しています。当社は肝細胞研究分野の科学者をサポートする専門家チームであり、当社の製品およびサービスは IND や NDA の提出をサポートし、酵素誘導、CYP 阻害、トランスポーター、およびその他の代謝関連分野における研究の進歩に関与しています。当社の目標は、お客様のニーズに最適なツールと技術サポートをご提供することです。

### 薬物代謝および薬物安全性に関する ADME/Tox 製品

初代培養肝細胞や肝細胞成分分画などの生理学的に関連する *in vitro* システムは、異物代謝、薬物相互作用、および細胞毒性に関連するアプリケーションを含めた *in vivo* アプリケーションに関するさまざまなリサーチクエストへの取り組みに使用することができます。当社では以下の研究に役立つ製品をご提供しています：

- CYP450 阻害および酵素誘導
- 代謝プロファイリングおよび代謝的安定性
- トランスポーターアプリケーション

### 幅広く取り揃えた *in vitro* 肝細胞製品

当社が包括的にご提供する製品には、ヒト、ラット、マウス、イヌ、ウサギ、非ヒト霊長類、マス、およびご要望に合わせたその他の種から分離された肝細胞および細胞成分分画が含まれます。当社の製品は特定の研究アプリケーションに対する適格性が事前に確認されており、そのほとんどはプールドドナー品またはシングルドナー品で、多くの場合、複数の実験および施設での実験に好適な大容量ロットをご提供しています。

製品例：

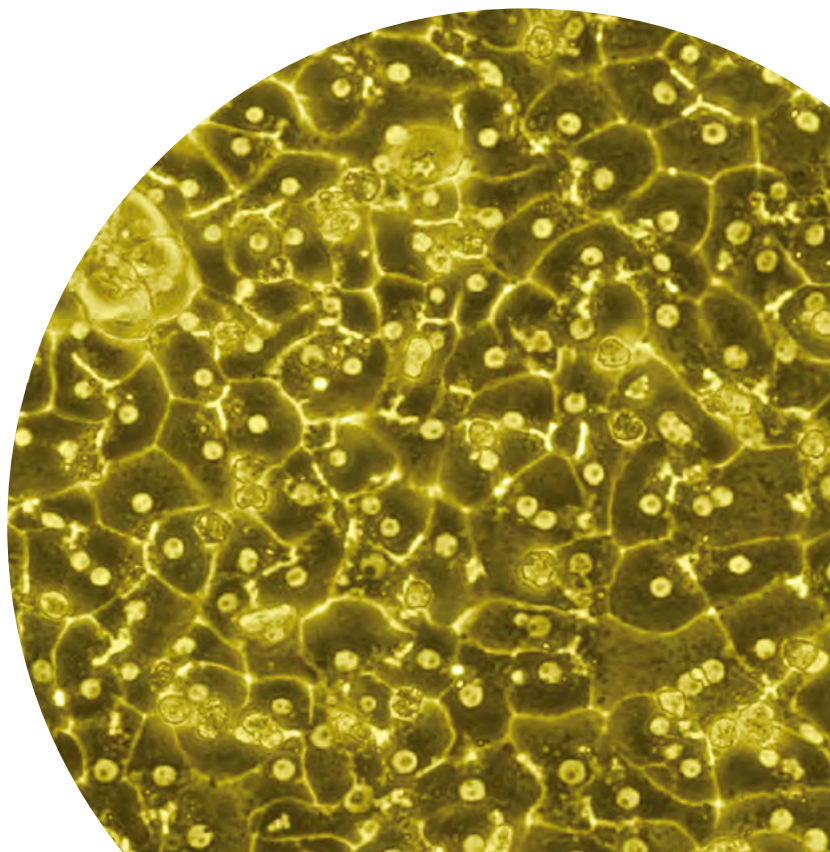
- 凍結保存初代培養肝細胞および Kupffer 細胞
- 細胞培養培地定性
- トランスポーターアプリケーション

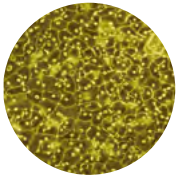
### Gibco 品質—あらゆるステップで

肝細胞科学者のチームである当社は、信頼できる高品質のサプライチェーンと厳格な特性解析法の重要性を深く理解しています。当社は以下をご提供します：

- 堅牢かつ広範な組織調達ネットワーク
- 綿密に磨き上げられた単離技術
- 厳格な品質管理基準
- 現在進行中の研究開発
- 技術サポートを提供する肝細胞製品専門担当者







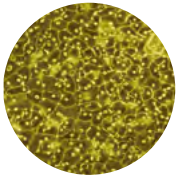
## アプリケーション一覧

アプリケーション	目的	FDA ガイダンス*	接着型肝細胞
<b>創薬研究 (ADME、DMPK、毒性学)</b>			
酵素誘導	化合物の肝酵素誘導能の有無を決定する	あり	+++
酵素阻害	化合物の肝酵素阻害能の有無を決定する	あり	
肝毒性	化合物およびその代謝物の肝毒性の有無を決定する	あり	+++
代謝プロファイリング	化合物の代謝に関与する酵素を決定する	あり	+++
代謝安定性	代謝酵素存在下で化合物の消失を測定する	あり	++
リアクションフェノタイピング (代謝同定)	代謝酵素暴露時に生じる化合物の代謝物を同定する	あり	++
トランスポーター取り込み	化合物の肝トランスポーター取り込み阻害能または誘導能の有無を決定する	なし	+++
トランスポーター排出	化合物の肝基底トランスポーター排出阻害能または誘導能の有無を決定する	なし	+++
<b>他の研究アプリケーション (R&amp;D、毒性学、環境安全)</b>			
環境生物濃縮	薬物または化学薬品のヒトおよび魚での生物濃縮を評価する	なし	+++
肝疾患研究	肝臓疾患について理解を深める	なし	+++
siRNA、基礎研究	疾患に対する遺伝子抑制の効果を明らかにする	なし	+++

\* Drug Interaction Studies-Study Design, Data Analysis, and Implications for Dosing and Labeling, Draft Guidance for Industry, USFDA, September 2006 and Guidance for Industry on Drug Interaction Studies, 2012.

- +++ Product highly recommended for this application.
- ++ Product recommended for this application.
- + Our lowest recommendation, but product may still be useful for some assays.

浮遊型肝細胞	肝ミクロソーム	肝 S9 フラクション	その他	カタログ番号
				<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMCPL, Gibco™ Human Cryopreserved Plateable Hepatocytes, Induction Qualified</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fresh plateable human hepatocytes</li> <li>• Cryopreserved and fresh plateable animal hepatocytes</li> </ul>
++	+++			<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMMCP, Gibco™ Human Pooled Microsomes</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cryopreserved suspension hepatocytes</li> </ul>
+++				<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMCPL, Gibco™ Human Cryopreserved Plateable Hepatocytes, Metabolism Qualified</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fresh and cryopreserved human and animal hepatocytes</li> </ul>
+++	+++			<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMMCP, Gibco™ Human Pooled Microsomes</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal microsomes</li> <li>• Human and animal, fresh and cryopreserved hepatocytes</li> <li>• Human and animal S9</li> </ul>
+++	+++			<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMMCP, Gibco™ Human Pooled Microsomes</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal microsomes</li> <li>• Human and animal, fresh and cryopreserved hepatocytes</li> <li>• Human and animal S9</li> </ul>
	+++		組換え CYP450 酵素類	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMMCS, Gibco™ Human Microsomes, Single Donor</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Baculosome Plus recombinant CYP450s and VIVID™ recombinant CYP450s</li> </ul>
+++				<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMCST, Gibco™ Human Cryopreserved Suspension Hepatocytes, Transporter Qualified</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Human plateable hepatocytes, transporter qualified</li> <li>• Animal hepatocytes</li> </ul>
			ABC ベシクル	<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMCPT, Gibco™ Human Cryopreserved Plateable Hepatocytes, Transporter Qualified</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• GenoMembrane™ ABC inside-out vesicles and membranes</li> <li>• Animal plateable hepatocytes</li> </ul>
++		+++		<ul style="list-style-type: none"> <li>• TRS9PL, Gibco™ Fish (Rainbow Trout) S9 Fractions</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal and human, fresh and cryopreserved hepatocytes</li> </ul>
+++	++			<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMCS10 HMCS50, Gibco™ Human Cryopreserved Suspension Hepatocytes, Pooled Donors</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal and human, fresh and cryopreserved, hepatocytes</li> <li>• Animal and human microsomes</li> </ul>
				<ul style="list-style-type: none"> <li>• HMCPT, Gibco™ Human Cryopreserved Plateable Hepatocytes Transporter Qualified</li> </ul> <b>Also available:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Human fresh plateable hepatocytes</li> <li>• Animal cryopreserved plateable hepatocytes</li> </ul>



## 創薬

# Cryopreserved Human and Animal Hepatocytes

肝臓から分離された初代培養肝細胞は、代謝、薬物相互作用、肝毒性、トランスポーターの *in vitro* 評価に有効なツールです。当社の肝細胞分離担当者は、細胞の健康状態を適切に保つための手法に習熟しています。そのため、Gibco™ Cryopreserved Human and Animal Hepatocytes は高い生存率、*in vivo* に近い酵素発現レベルを示すほか、プレート接着型細胞として出荷されたものは極性化および機能的な細胞間接着に役立つ高い集密度を示します (図 1)。

- 豊富なロット
- 高い生存率 通常 80%以上
- 第 I 相および第 II 相の薬物代謝酵素活性を評価
- 複数の大容量ロットをご用意—複数の拠点での長期試験に最適

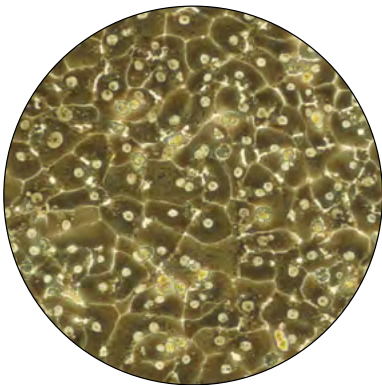
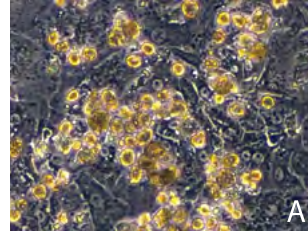


図 1. サンドイッチ培養 5 日後のコンフルエントかつ健康なヒト肝細胞集密度が高く (90% 超)、毛細胆管が観察可能であることは、このロットが代謝実験、誘導実験、トランスポーター取り込み実験に適していることを示しています。

## 品質管理

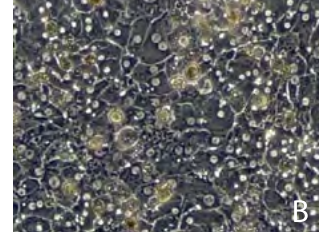
- 顕微鏡写真によって細胞形態の 10 項目を確認—細胞膜の完全性、細胞内小器官サイズ、脂肪滴の存在、核のサイズおよび形態、サイトゾルの透明性、細胞形、細胞片の量、細胞排泄物、細胞間接着 (接着型細胞のみ)、毛細胆管網の再形成 (接着型細胞のみ)
- 代謝活性試験—ECOD、7-HCG、7-HCS ; ヒト肝細胞は以下を含みます : CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A、FMO
- アプリケーション適格性試験—接着率、単層集密度 (図 2)、典型的な誘導剤による fold induction、トランスポーター取り込みおよび排出、*in situ* 固有クリアランス
- その他の特性データ—遺伝子型同定、最適播種密度 (図 3 と 4)、生存率の安定性、ドナーに関する統計情報

単層完全性の欠如  
([「不健康な」形態])



- 集密度が低い (70% 未満)\*
- 細胞間接着に乏しい
- 細胞質が粒状
- 明らかな細胞伸展
- 細胞が重度に平坦化
- 毛細胆管が欠如

理想的な単層完全性  
([「健康な」形態])



- 集密度が高い (90% 超)
- 細胞間接着が良好
- 細胞質が透明
- 3次元組織
- 立方状の細胞構造
- 毛細胆管の形成

\*注: 不健康な単層はコンフルエンスを示すことができますが、細胞の伸展と平坦化によって完全性が損なわれています。

図 2. それぞれ別のドナーの組織から分離したヒト凍結肝細胞を数日間培養した場合の (A) 単層の完全性が損なわれている画像 (B) および単層の完全性が理想的な画像の代表例

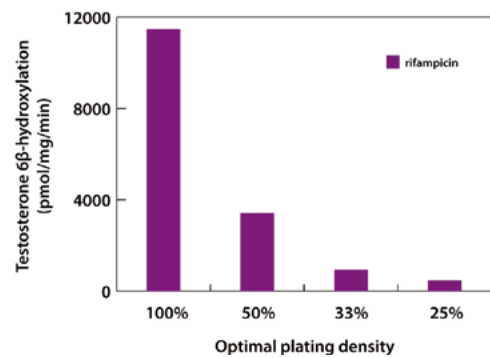


図 3. 播種密度の効果

播種密度によって誘導応答が異なります。ここでは最適播種密度に近いほうが RIF に対する応答が優れています。

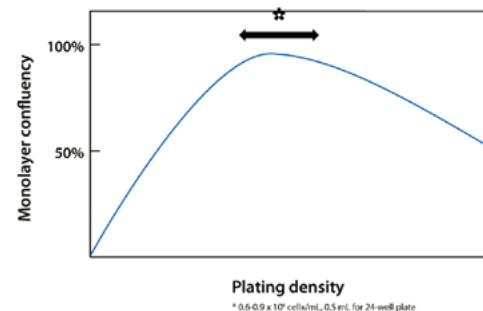


図 4. 播種密度と単層のコンフルエンスとの一般的な関係

ヒト肝細胞の場合、最大コンフルエンスが得られる 24 ウェルプレートの最適播種密度は  $0.6 \sim 0.9 \times 10^6$  細胞 / mL です。

## Human Cryopreserved Hepatocytes, Transporter Qualified

- 機能的な膜受容体とトランスポーターを含有
- 効率的なトランスポーター取り込みおよび排出評価（付着型肝細胞）実験に好都合
- 厳格な出荷規格（米国出荷時）：生存率 80% 以上、集密度 80% 以上（付着型肝細胞）

### 浮遊型肝細胞によるトランスポーター取り込みの測定

Gibco™ Human Cryopreserved Hepatocytes (Transporter Qualified) は肝取り込み試験に適しています。通常、この試験では比較的短時間(多くの場合 15 秒~3分)のインキュベーション後に細胞内における基質の出現率を測定します。当社のトランスポーター用ロット（浮遊型および接着型）はすべて、タウロコール酸、ジゴキシン、エストラジオール-17β-グルクロニド (E2-17G) を基質として、NTCP、OATP1B3、および OATP トランスポーター経路の活性について機能試験を行なっているほか、第 I 相および第 II 相代謝の活性についても機能試験を行なっています。毛細胆管網は化合物 5-(6)-カルボキシ-2',7'-ジクロロフルオレセインジアセテート (CDFDA) を使って蛍光顕微鏡で可視化しています。CDFDA は、MRP2 トランスポータータンパク質の基質であり、培養によって細胞が極性化し、毛細胆管が形成される 3 ~ 4 日間で毛細胆管に蓄積されます (図 5)。凍結前と凍結後のトランスポーター取り込みのデータを比較したところ結果がほぼ同じであったことから、浮遊型肝細胞のトランスポーター遺伝子発現は凍結によって変化しないことがわかります (図 6)。

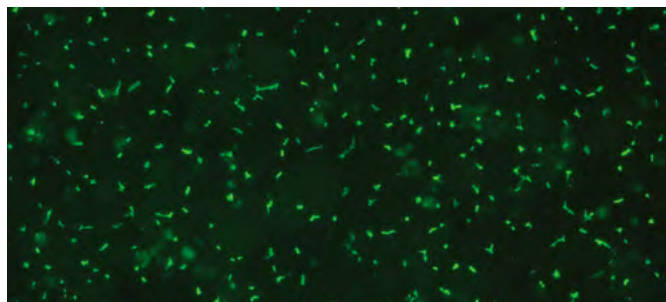


図 5. 5-(6)-カルボキシ-2',7'-ジクロロフルオレセイン (CDF) の蓄積を示す機能的な毛細胆管網の可視化

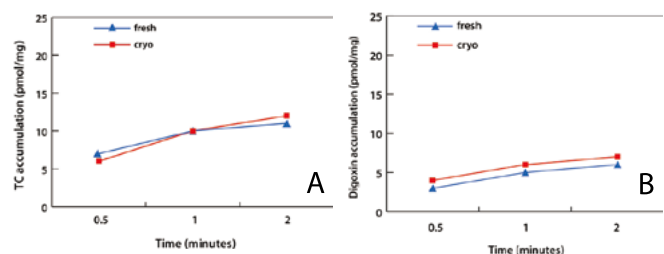
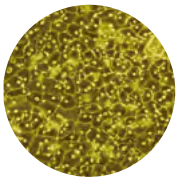


図 6. 凍結前と凍結後の浮遊型ヒト肝細胞の活性の比較

同じロットのヒト肝細胞を使って分離後 2 時間と凍結後にトランスポーター取り込みに関する機能試験を行いました。両条件の 2 つの基質 (A) タウロコール酸ナトリウムと (B) ジゴキシンの平均蓄積値はほぼ同じでした。





## Human Hepatocytes, Induction Qualified

- CYP1A2、CYP2B6 および CYP3A 誘導について適格性を評価済み
- 生存率 80% 以上、集密度 80% 以上（プレート培養細胞の場合、米国出荷時）
- 最小特異的活性：
  - CYP1A2 の誘導 10 倍以上
  - CYP2B6 の誘導 5 倍以上
  - CYP3A4 の誘導 3 倍以上

### *in vitro* 酵素誘導モニタリング実験におけるロット別酵素誘導アッセイ

当社の誘導用肝細胞は、典型的な誘導剤に反応させた場合の特異的活性と mRNA レベルの試験をパスしています。ヒト凍結肝細胞は 24 ウェルのコラーゲン塗布プレートで培養し、トリプレケートで溶媒 (0.1% DMSO)、オメプラゾール (OMP)、フェノバルビタール (PB)、リファンピシン (RIF) を投与して 72 時間放置します。一度単層を洗浄した後に、基質のフェナセチン、ブプロピオン、テストステロンを加えてインキュベートし、CYP1A2、CYP2B6、CYP3A の活性をそれぞれ決定します (表 1、図 7)。誘導された活性と溶媒で処理した場合の活性との比で特異的活性の fold induction を示します。処理後 48 時間に Applied Biosystems™ TaqMan® qRT-PCR 分析によって mRNA 量も測定します。

表 1. Gibco™ 接着型ヒト凍結肝細胞 (誘導用) の CYP450 活性を評価するためのプローブ基質

酵素	誘導剤	誘導剤濃度	基質	基質濃度	インキュベーション時間	マーカー代謝物
CYP1A2	omeprazole	50 μM	phenacetin	100 μM	15 min	acetaminophen
CYP2B6	phenobarbital	1000 μM	bupropion	500 μM	20 min	hydroxybupropion
CYP3A	rifampicin	10 μM	testosterone	200 μM	14 min	6 β-hydroxytestosterone

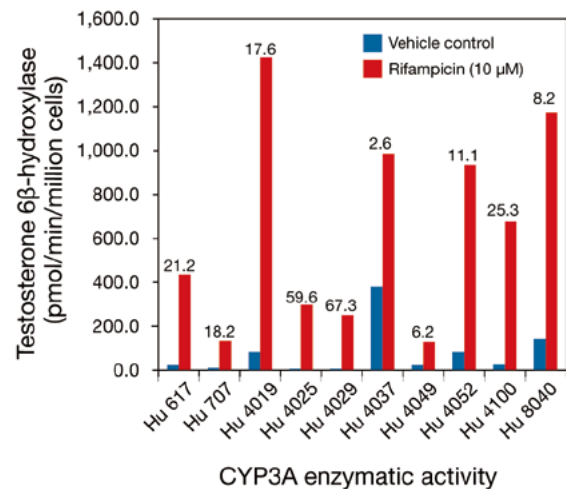


図 7. CYP3A の fold induction について試験した Gibco のヒト凍結肝細胞

典型的な誘導剤に反応させて Gibco のヒト凍結肝細胞を試験し、アプリケーションに対する適否を明らかにします。この例では、CYP3A の誘導倍率 fold induction (バーの上に示されている数値) が計算されており、肝細胞の各ロット固有のばらつきが示されています。



## Human Cryopreserved Hepatocytes, Plated, Metabolism Qualified

- 代謝回転の低い化合物の固有クリアランス ( $CL_{int}$ ) の評価に有用
- ミダゾラム、トルブタミド、デキストロメトルファン の  $CL_{int}$  に基づいて適格性を評価済み
- 80%以上の生存率と75%以上の接着効率

### 代謝評価用付着型ヒト肝細胞の代謝アッセイ条件

Gibco™ Human Cryopreserved Hepatocytes, Plated, Metabolism Qualified は、CYP450 の典型的な基質であるミダゾラム、トルブタミド、デキストロメトルファンを用いてそれぞれ CYP3A4、CYP2C9、CYP2D6 の酵素機能をテストしています (図 8)。コラーゲンコートプレートに肝細胞を接着させた後に、血清不含 Williams Medium E を用いてデュプリケートでインキュベートし、氷冷したアセトニトリルを使って表 2 に示した時点で反応を停止させます。ウェルの中身を  $-70^{\circ}\text{C}$  で保存した後に分析します。親化合物の消失を LC-MS/MS でモニターし、直線回帰によって固有クリアランス値を決定します。

表 2. プレート培養したヒト凍結肝細胞の  $CL_{int}$  のインキュベーション条件

基質	濃度	インキュベーション時間
Midazolam	0.50 $\mu\text{M}$	0, 1, 2, 4, 6, 8 hr
Tolbutamide	1.00 $\mu\text{M}$	0, 4, 6, 8, 18, 24 hr
Dextromethorphan	1.00 $\mu\text{M}$	0, 1, 2, 4, 6, 8 hr

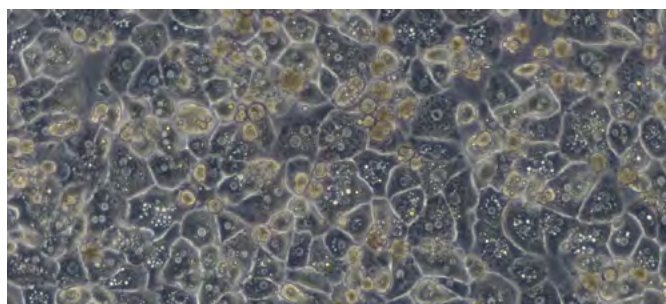


図 8. プレート培養代謝 (固有クリアランス) について適格性を評価済みのヒト凍結肝細胞

$CL_{int}$  ( $\mu\text{L}/1 \times 10^6$  細胞 / 分) の結果は、ミダゾラムが 14.6、トルブタミドが 1.34、デキストロメトルファンが 7.20 でした。

## Human Cryopreserved HEP10 Pooled and Single Donor Hepatocytes, Metabolism Qualified

- CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A、ECOD、7-HCG および 7-HCS 活性を評価 (表 3)
- バッチサイズが 500 バイアルを超える高品質のプールされたロット

Gibco™ Human Cryopreserved HEP10™ Pooled and Single Donor Hepatocytes は、代謝プロファイリング、代謝安定性といった代謝試験に最適です。肝組織調達および肝細胞分離をリードするメーカーとして、当社はシングルドナーロットおよびプールドロットの最大級の品揃えを誇ります (図 9)。当社のプールドロットは平均的な CYP450 活性をもつ正常なドナーから調製しているため、複数のドナーを用いる必要がある実験に好都合です。

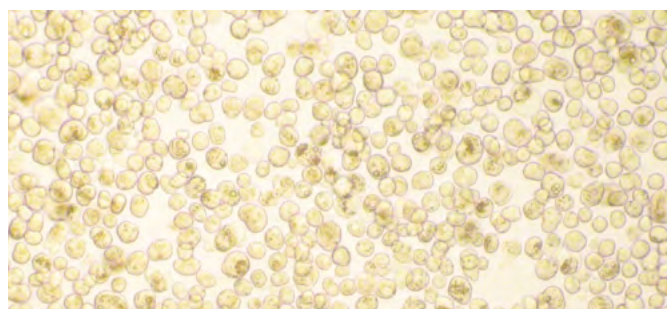


図 9. 浮遊代謝アプリケーションについて適格性を評価済みのヒト肝細胞

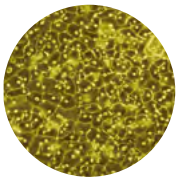


表 3. Gibco™ 浮遊型ヒト凍結肝細胞の代謝能を測定するためのテスト条件

酵素	基質	濃度	インキュベーション時間	マーカー代謝物
CYP1A2	phenacetin	100 μM	15 min	acetaminophen
CYP2B6	bupropion	500 μM	20 min	hydroxybupropion
CYP2C8	paclitaxel	20 μM	45 min	6 α-hydroxypaclitaxel
CYP2C9	diclofenac	25 μM	15 min	4'-hydroxydiclofenac
CYP2C19	(S)-mephenytoin	250 μM	30 min	4'-hydroxymephenytoin
CYP2D6	detromethorphan	15 μM	15 min	dextrorphan
CYP3A4	testosterone	200 μM	14 min	6 β-hydroxytestosterone
Phase I and II	7-ethoxycoumarin	100 μM	30 min	7-HCG, 7-HCS, 7-HC *

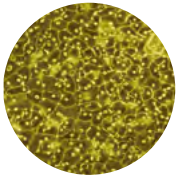
\* 7-hydroxycoumarin glucuronide, 7-hydroxycoumarin sulfate and 7-hydroxycoumarin

表 4. 接着型ヒト凍結肝細胞トラブルシューティングガイド

問題	考えられる原因	アドバイス
解凍後の細胞生存率が低い	<ul style="list-style-type: none"> <li>解凍手法が不適切</li> <li>解凍培地が最適ではない</li> <li>計数時の肝細胞の取り扱いが荒い</li> <li>計数または播種前の細胞の放置時間が長すぎる</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>解凍、播種および計数について、詳細なプロトコルを見直す</li> <li>細胞を 37° C、2 分未満で解凍する</li> <li>解凍に CHRM™ Medium を使って凍結保護剤を除去する</li> <li>ワイドボアピペットチップを使用し、穏やかに混合する</li> <li>計数前に細胞混合物が均一であることを確認する</li> <li>4 本の格子線のうち 2 本の格子線上の細胞を計数する</li> <li>ロードする前に細胞をトリパンブルー混合液中に 1 分間以上放置しない</li> <li>計数後速やかに細胞を播種する</li> </ul>
細胞収量が想定していたより低い	<ul style="list-style-type: none"> <li>解凍手法が不適切</li> <li>解凍培地が最適ではない</li> <li>遠心速度が不適切</li> <li>計数時の肝細胞の取り扱いが荒い</li> <li>計数手法が不適切</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>解凍、播種および計数について、詳細なプロトコルを見直す</li> <li>細胞を 37° C、2 分未満で解凍する</li> <li>解凍に CHRM™ Medium を使って凍結保護剤を除去する</li> <li>室温、100 × g で 10 分間遠心する</li> <li>ワイドボアピペットチップを使用し、穏やかに混合する</li> <li>計数前に細胞混合物が均一であることを確認する</li> <li>4 本の格子線のうち 2 本の格子線上の細胞を計数する</li> <li>ロードする前に細胞をトリパンブルー混合液中に 1 分間以上放置しない</li> </ul>
接着率が低い	<ul style="list-style-type: none"> <li>細胞の接着時間が不十分</li> <li>細胞下層の品質が悪い</li> <li>肝細胞のロットが接着型ではない</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>サーモフィッシャーサイエンティフィックが提供するロット別特性評価仕様書の写真と培養細胞とを比較する</li> <li>Geltrex™ を重層する前に、時間をおいて接着率が増加するかどうかを確認する</li> <li>Gibco™ Collagen I Coated Plate を使用する</li> <li>解凍、播種および計数について、詳細なプロトコルを見直す</li> <li>ロットの規格を調べて接着用であることを確認する</li> </ul>

表 4. 接着型ヒト凍結肝細胞トラブルシューティングガイド (続き)

問題	考えられる原因	アドバイス
単層の集密度が不十分	<ul style="list-style-type: none"> <li>播種密度が低すぎる</li> <li>播種時の肝細胞の分散が不十分</li> <li>ウェルフォーマットに対応する播種液量が不適切</li> <li>接着率が低い (上記参照)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>サーモフィッシャーサイエンティフィックが提供するロット別特性評価仕様書で適切な播種密度を確認する</li> <li>インキュベーション前に顕微鏡で細胞を観察し、播種が適切かを調べる</li> <li>インキュベーター内でプレートを8の字または前後にゆっくり動かして細胞を均一に分散させる</li> <li>播種量についてサーモフィッシャーサイエンティフィックの文献または技術サポートを参照する</li> </ul>
単層が完全性に欠ける (単層上に細胞塊または細胞片の集合)	<ul style="list-style-type: none"> <li>播種密度が高すぎる</li> <li>播種時の細胞の分散が不十分</li> <li>ウェルフォーマットに不適な播種量</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>サーモフィッシャーサイエンティフィックが提供するロット別特性評価仕様書で適切な播種密度を確認する</li> <li>インキュベーション前に顕微鏡で細胞を観察し、播種が適切かを調べる</li> <li>インキュベーター内でプレートを8の字または前後にゆっくり動かして細胞を均一に分散させる</li> <li>Geltrex™ を重層する前にプレートを揺り動かし、細胞単層を洗う</li> <li>播種量についてサーモフィッシャーサイエンティフィックの文献または技術サポートを参照する</li> </ul>
膜の完全性または立方状の細胞形態が失われている	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝細胞のロットが接着型ではない</li> <li>培地が最適ではない</li> <li>細胞の培養期間が長すぎる</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ロットの規格を調べて接着用であることを確認する</li> <li>Gibco™ Plating and Incubation Supplement Packs を添加した Gibco™ Williams Medium E を使用する</li> <li>播種プロトコルを参照する</li> <li>通常、接着型ヒト凍結肝細胞は5日以上培養しないでください</li> </ul>
毛細胆管の形成が不十分	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝細胞のロットがトランスポーター用ではない</li> <li>培地が最適ではない</li> <li>毛細胆管の形成時間が不十分</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ロットの規格を調べてトランスポーター用であることを確認する</li> <li>Gibco™ Plating and Incubation Supplement Packs を添加した Gibco™ Williams Medium E を使用する</li> <li>サーモフィッシャーサイエンティフィックの播種プロトコルを参照する</li> <li>通常、毛細胆管網の形成には4～5日以上以上の培養期間が必要</li> </ul>
予期しない誘導結果	<ul style="list-style-type: none"> <li>単層集密度が不十分 (上記参照)</li> <li>単層が完全性に欠ける (上記参照)</li> <li>ポジティブコントロールが不適切</li> <li>ポジティブコントロールの濃度が不適切</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>サーモフィッシャーサイエンティフィックが提供するロット別特性評価仕様書の結果と得られた結果とを比較する</li> <li>酵素誘導プロトコルを参照する</li> <li>ポジティブコントロールが適切であることを確認する</li> </ul>
細胞の集合、細胞片、細胞の壊死を示す単層の穴がみられる	<ul style="list-style-type: none"> <li>被験化合物の毒性</li> <li>培地が最適ではない</li> <li>肝細胞のロットが接着型ではない</li> <li>細胞の培養期間が長すぎる</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>処理した細胞と未処理の細胞の形態を比較する</li> <li>播種プロトコルを参照する</li> <li>ロットの規格を調べて接着用であることを確認する</li> <li>通常、接着型ヒト凍結肝細胞は5日以上培養しない</li> </ul>



## Animal Cryopreserved Plateable and Suspension Hepatocytes

- 毒性学に利用される主要な動物種の接着型ロットまたは浮遊型ロットをご用意
- 生存率が通常 80%以上
- 第 I 相および第 II 相酵素の活性を評価

当社の動物凍結肝細胞はヒト凍結肝細胞と同じ丁寧な分離・凍結保存手法で調製されています。当社ではマウス、ラット、イヌ、ウサギ、非ヒト霊長類から定期的に肝細胞を分離しているほか、ご依頼に応じて他の動物種の肝細胞も分離いたします。第 I 相および第 II 相酵素活性の評価法の対象は ECOD、7-HCG、7-HCS です。当社では経時的な細胞形態、接着率、単層集密度（接着型細胞）、生存率安定性も厳密にモニターしています。

表 5. 凍結肝細胞の解凍および播種に関する一般的なガイドライン

	Human	Rat	Mouse	Dog	Monkey
遠心条件	100 × g 10 min	86 × g 6 min	86 × g 6 min	86 × g 6 min	86 × g 6 min
肝細胞のサイズ	20 μm	30 μm	50 μm	20 μm	8 – 10 μm
播種密度	0.7 – 0.9 × 10 <sup>6</sup> total cells/μm	0.7 – 0.9 × 10 <sup>6</sup> total cells/μm	0.3 – 0.5 × 10 <sup>6</sup> total cells/μm	0.7 – 0.9 × 10 <sup>6</sup> total cells/μm	0.9 – 1.1 × 10 <sup>6</sup> total cells/μm
培養後 72 時間					

追記：上記遠心条件は Hepatocyte Thaw Medium (CM7500) を使用される場合の条件です。

### 凍結クッパー細胞、生理学的により良いモデルを提供

正常および病理学的な条件下で、多くの肝細胞の機能はその近傍にある非実質性細胞（NPC）から放出される物質によって制御されることが多くの証拠によって示されています。これら細胞の中で、特にクッパー細胞は肝臓の異化代謝調節に重要な役割を果たしています。クッパー細胞は炎症応答の主たる媒介物質を分泌し、肝臓の炎症をコントロールしています。こうしたサイトカイン媒介物質は第 I 相と第 II 相酵素群と直接的な相互作用を通して、肝細胞の代謝率コントロールに関与しています。炎症誘発サイトカインまたはリポ多糖類（LPS）で処理をすると 72 時間後には、共培養中のクッパー細胞と肝細胞は自己組織化することができます。そして効果的に P450 発現を調節することで機能し、生理学的に対応する結果をもたらします。肝細胞と NPCs を共培養することで、肝臓の正常な生理状態と病的状態の両方をより明瞭に示すことが研究で分かっています。凍結保存された精製ヒトクッパー細胞とラットクッパー細胞は、肝細胞とクッパー細胞の共培養系でさまざまな肝機能を研究する便利なツールを提供します。



## 凍結クッパー細胞の品質

- 高い生存率、通常 90%以上
- 高い精製率、通常 90%以上
- リポ多糖類 (LPS) による活性化反応
- バイアル当たり生存細胞が最小限でも 100 万個
- 肝細胞との共培養プロトコルが提供可能

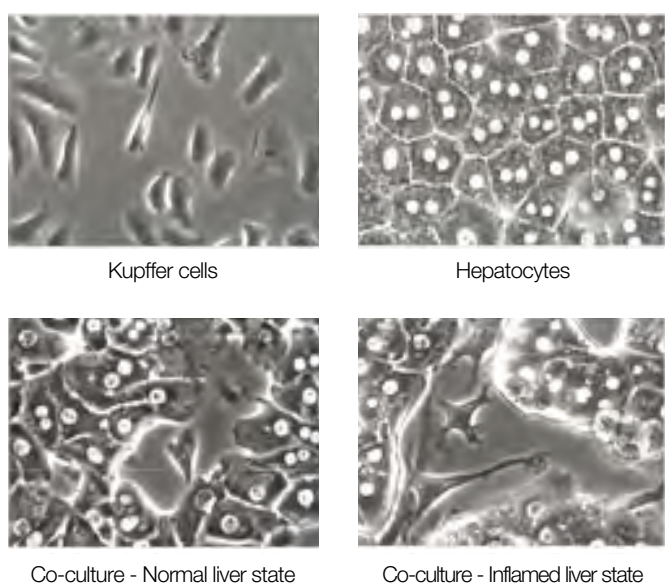


図 10. 正常および炎症状態の肝臓モデル

これらのモデルによって、研究者は炎症時の肝細胞とクッパー細胞間の相互作用を研究することが可能。

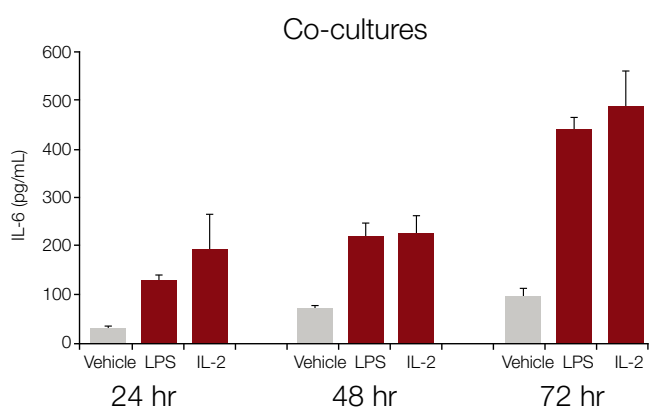
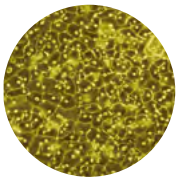


図 11. クッパー細胞と肝細胞の共培養中での IL6 産生 (LPS および IL2 刺激後 24、48、および 72 時間経過後)

24、48、72 時間後の全ての時点で IL6 が顕著に上方調節されていることに注意。クッパー細胞と肝細胞間の相乗的な細胞自己組織化によって、炎症時の反応中にこれら細胞が共に機能できることを示唆している。



## 細胞培養試薬

### 解凍用培地

Gibco™ Hepatocyte Thaw Medium (HTM) および Gibco™ Cryopreserved Hepatocyte Recovery Medium (CHRM™) は、細胞凍結保存後に凍結保護剤を除去しながら生存肝細胞の収率を高めるために設計された独自の処方です。適切に使用した場合、一貫して生存率が高く、より健康な肝細胞が得られることが証明されています (図 12)。いずれの培地も簡単に使用できます。解凍した肝細胞 1 バイアル分をコニカルチューブに移し、軽く遠心分離して培地を除去し、細胞ペレットをやさしく再懸濁するだけです。

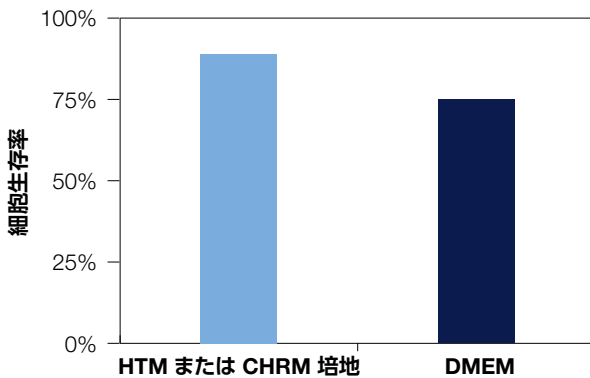


図 12. 凍結保存後の肝細胞生存率を向上させる能力における HTM または CHRM の典型的結果と DMEM の典型的結果との比較

### Williams Medium E

LC-MS/MS 分析を行なう肝細胞研究にはフェノールレッド不含 Gibco™ Williams Medium E のご使用をお勧めします。

### Hepatocyte Plating Supplement Pack

Gibco™ Hepatocyte Plating Supplement Pack は、適格性評価済みのウシ胎児血清、デキサメタゾン、ペニシリン - ストレプトマイシンのカクテル溶液、ウシインスリン、GlutaMAX™、HEPES が含まれており、新鮮肝細胞または凍結肝細胞を播種するため、最大 500 mL のフェノールレッド不含 Williams Medium E または別の適切な基本培地に添加します。

### Hepatocyte Maintenance Supplement Pack

Gibco™ Hepatocyte Maintenance Supplement Pack は、デキサメタゾン、ペニシリン - ストレプトマイシンのカクテル溶液、ITS + (インスリン、トランスフェリン、セレン錯体、BSA、リノール酸)、GlutaMAX™、HEPES が含まれており、浮遊培養またはプレート培養で肝細胞をインキュベートするため、最大 500 mL のフェノールレッド不含 Williams Medium E または別の適切な基礎培地に添加します。

### Geltrex Reduced Growth Factor Basement Membrane Matrix

Gibco™ Geltrex™ Matrix は、Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) 腫瘍細胞間の境界を形成する特殊な細胞外基質の連続シートから精製されており、可溶性の増殖因子低減 (RGF) 基底膜抽出物 (BME) です。Geltrex Matrix の主成分は、ラニン、IV 型コラーゲン、エンタクチン、ヘパリン硫酸プロテオグリカンであり、3次元 (3D) 培養試験の基盤を提供します。

### Collagen I, Rat Tail for Cell Culture

コラーゲンは、細胞培養に最もよく使用されている細胞外基質 (ECM) タンパク質で、細胞の接着や分化を促します。5 mg/mL Collagen I 溶液のほか、Collagen I をコートした 6 ウェルプレート、24 ウェルプレート、96 ウェルプレートも肝細胞実験向けにご用意しています。

### Gibco HepExtend Supplement (50X)

Gibco™ HepExtend™ Supplement (50X) は、凍結初代肝細胞の細胞生存率、機能および培養可能日数を改善するために開発された培地です。これにより、標準的な培養条件では達成できない代謝や毒性評価結果を得ることができます (図 13 および 14)。

HepExtend Supplement をスタンダード培地である Williams E Hepatocyte Maintenance Medium に加えて、現在の肝細胞の培養方法および装置と一緒に使用してください。本サプリメントには、初代肝細胞機能を妨げることが知られている低分子やウシ胎児血清は含まれておりません。

付着肝細胞を培養する際に最良の細胞形態および生存率を提供できるよう設計されています。

- 細胞の生存期間を延長することで、正常細胞形態および微小胆管を維持しながら培養期間を 10 日以上に延長することができます。
- cGMP 準拠施設において最高品質の材料を使用し、安定した品質で提供しています。

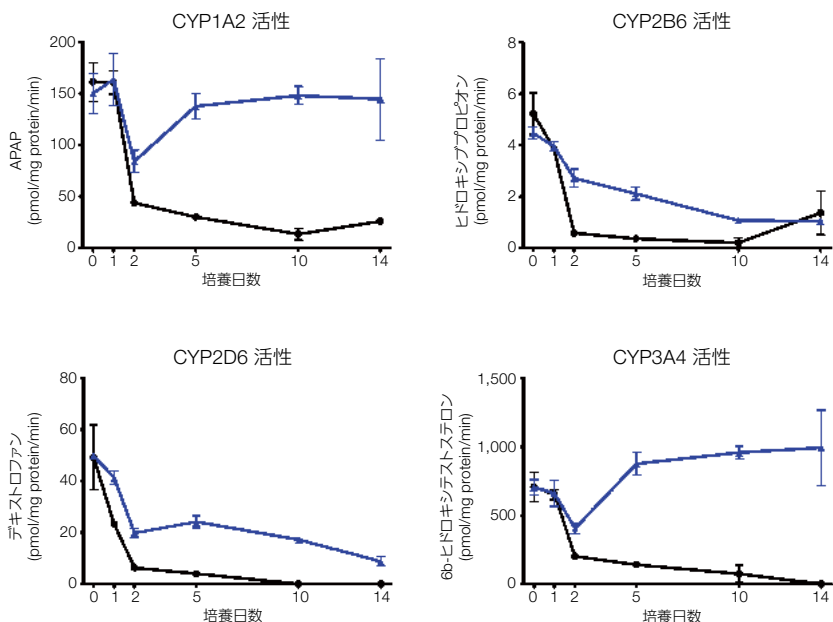


図 13. 14 日間の培養期間におけるチトクローム P450 特異的活性

HepExtend Supplement を使用した培養では、ウィリアム E 培地と比較してチトクローム P450 の活性が高くなっています。

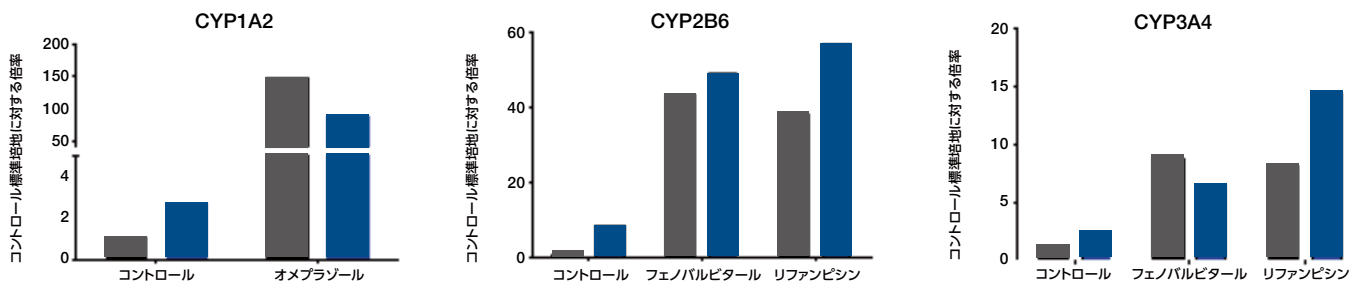
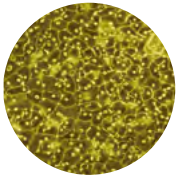


図 14. HepExtend Supplement 中で培養したヒト肝細胞は Ah 受容体 (PXR および CAR) に対する誘導剤に対して反応



### ヒトおよび動物凍結肝細胞の解凍・播種プロトコル

準備するもの：重層を行なう場合は、ロットの濃度と技術的な参考事項について Gibco™ Geltrex™ Reduced Growth Factor Basement Membrane Matrix (製品番号 12760-021) の仕様書をご参照ください。Geltrex Matrix は、使用前に氷上で 3 ~ 4 時間解凍するか、または 4°C で一晩解凍した後に、氷冷しておきます。初代培養肝細胞を取り扱う際には、一般的な安全対策を講じ、適切な安全キャビネットをご使用ください。

### 解凍、遠心、再懸濁

1. HTM Medium と Plating Medium (Gibco™ Hepatocyte Plating Supplement Pack (Serum-Containing) を添加した Williams Medium E) を 15 分間温めて 37°C にします。
2. 凍結肝細胞を 37°C のウォーターバスに約 2 分間浸して解凍します。
3. フード内で 70% アルコールによりバイアルを消毒し、注ぐか、またはワイドポアのピペットチップを使って肝細胞を HTM Medium に移します。
4. 室温で遠心します：
  - ヒト肝細胞、100 × g で 10 分間
  - 動物肝細胞、86 × g で 10 分間
5. 注意深く吸引を行ない、適量の Plating Medium (通常は 1 × 10<sup>6</sup> 細胞あたり 1 mL) を添加します。

### 計数、播種およびインキュベート

6. 細胞生存率と収量を決定します (詳細は肝細胞計数手順をご参照ください)。細胞を浮遊させて使用する場合は以下には進みません (図 15)。
7. Plating Medium で播種密度に希釈します：
  - ヒト肝細胞、Certificates of Analysis (COA) 参照 (通常 0.7 ~ 0.9 × 10<sup>6</sup> 全細胞 /mL)
  - イヌおよびラット肝細胞、0.7 ~ 0.9 × 10<sup>6</sup> 全細胞 /mL
  - マウス肝細胞、0.3 ~ 0.5 × 10<sup>6</sup> 全細胞 /mL
  - 非ヒト霊長類肝細胞、0.9 ~ 1.1 × 10<sup>6</sup> 全細胞 /mL

8. 肝細胞をマルチウェルプレートに移し、分散させます。ただし、回旋はさせないでください。  
24 ウェルプレートの場合：
  - ヒト肝細胞、500 μL、Certificates of Analysis (COA) に応じた密度
  - イヌおよびラット肝細胞、500 μL、ウェルあたり 3.5 ~ 4.5 × 10<sup>5</sup> 細胞
  - マウス肝細胞、500 μL、ウェルあたり 1.5 ~ 2.5 × 10<sup>5</sup> 細胞
  - 非ヒト霊長類肝細胞、500 μL、ウェルあたり 4.5 ~ 5.5 × 10<sup>5</sup> 細胞
9. 37°C で 4 ~ 6 時間インキュベートします。
10. プレートの培地を撈拌して吸引します。
11. 重層を行なう場合は、Gibco™ Hepatocyte Maintenance Supplement Pack (Serum-Free) を含有する Williams Medium E で氷冷した Geltrex Matrix を 0.35 mg/mL の最終濃度に希釈して、4°C の Geltrex™ Matrix 混合物を調製します。
12. 4°C の Geltrex を重層するか、または 37°C の Incubation Medium を添加してプレートを一晩インキュベートした後に使用します。

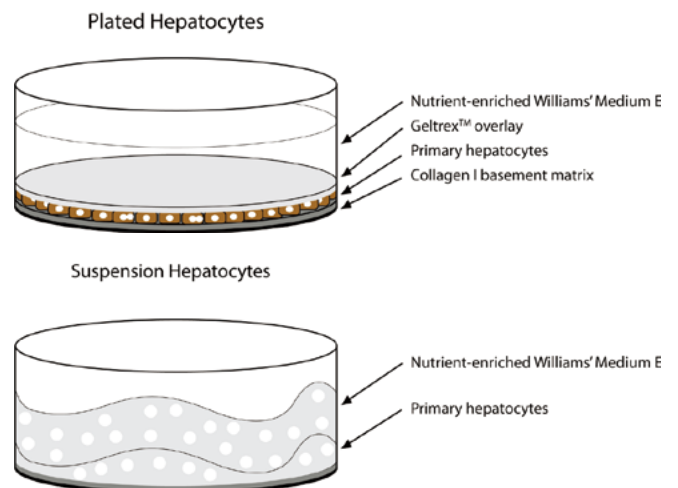


図 15. 浮遊肝細胞とプレート肝細胞のセットアップ



## トリパンブルー色素排除試験法による初代培養肝細胞の計数プロトコル

注：初代培養肝細胞を取り扱う際には、一般的な安全対策を行い、適切な安全キャビネットをご使用ください。凍結肝細胞を解凍し、凍結保護剤を除去する手順は播種プロトコルに記載されています。

### 細胞計数用バイアルの準備

1. 1.5 mL のマイクロ遠心チューブに 200  $\mu$ L のバッファー (PBS またはこれに類する溶液) と 50  $\mu$ L の 0.4% トリパンブルー染色液を加えて混合します。細胞の計数に用いる 1.5 mL のバイアル (細胞計数用バイアル) にこのトリパンブルー希釈液を 50  $\mu$ L 加えます。
2. 肝細胞浮遊液を計数用バイアルに加える前に、肝細胞浮遊液が入ったチューブを穏やかに数回転倒混和して溶液を均一にします。細胞を正確に計数するにはこのステップが極めて重要です。
3. ワイドボアチップで 50  $\mu$ L の肝細胞浮遊液を一度だけ吸い上げて測り取り、細胞計数用バイアルに押し出して注入します。この際にチップを洗浄しないでください。細胞浮遊液が 2 倍に希釈されてしまいます。
4. 計数用バイアルを弾く、または穏やかにたたいて混ぜます。細胞が壊死して正確な生存率が決定できなくなるため、激しい振盪や撹拌は避けてください。

### 血球計算盤の準備

5. 計数用バイアルを 1 分静置し、これを穏やかに弾く、またはたたいて再度混合した後に、ピペットで 10  $\mu$ L の混合液を血球計算盤の片側の V 字型の溝にゆっくり移します。毛管作用によって細胞浮遊液が血球計算盤に吸い込まれます。
6. 計数前に、顕微鏡下で 4 区画を素早く調べて細胞が均等に分布していることを確かめます。血球計算盤に細胞が均等に分布していない場合や泡が入っている場合はやり直します。

### 肝細胞の計数

7. 血球計算盤の 4 区画の生細胞 (透明または黄色) と死細胞 (青色) を速やかに計数します。その際は、各区画の 2 本の区画線上の細胞数を含めて計数します (図 16)。トリパンブルーへの曝露が長くなると細胞が壊死するおそれがあるため、計数は速やかに行ってください。

### 計算

8. 全肝細胞数のほか、肝細胞の生存率を求めます。肝細胞混合物を目的の最終細胞濃度に希釈する場合は、添加済みの新たな Plating Medium またはこれと同等の培地を使用します。
9. 生細胞率 = (生細胞数 / 全細胞数)  $\times$  100
10. 生細胞の収量 = 1 区画あたりの生細胞の平均数 (全生細胞数  $\div$  4)  $\times$  10,000  $\times$  2  $\times$  最終細胞浮遊液の全量 (mL)
11. 全細胞密度 (細胞数 / mL) = 1 区画当たりの生細胞 + 死細胞の平均数  $\times$  10,000  $\times$  2。ここで、10,000 は 1 区画の体積 (0.1  $\mu$ L) の換算係数であり、2 は細胞希釈倍率です。

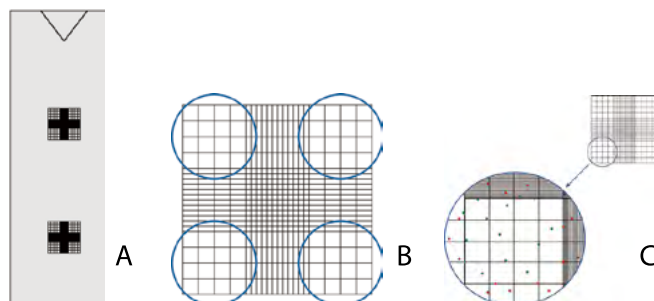
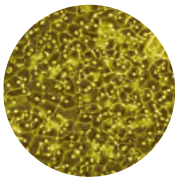


図 16. 血球計算盤の細胞の計数

細胞とトリパンブルーとの混合液を血球計算盤の片側にロードし、全 4 区画 (B の円) の細胞数を計数します。区画線上の細胞を計数する際には、2 本の区画線上の細胞数を計数し、残りの 2 本の区画線上の細胞数は計数しません。たとえば図 C の場合、上と左の区画線上にある細胞 (緑の点) は計数しますが、下と右の区画線上にある細胞 (赤の点) は計数しません。



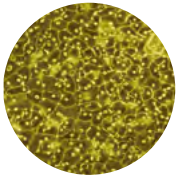
## Ordering information

製品名	サイズ	製品番号
Human Cryopreserved Plateable Hepatocytes, Kupffer and Hepatic Stellate Cells (Each lot's Certificate Of Analysis has an exact cell count.)		
Human Plateable Hepatocytes, Spheroid Qualified	> 5 million viable cells	HMCP SQ
Human Plateable Hepatocytes, Transporter Qualified	> 4 million viable cells	HMCP TS
Human Plateable Hepatocytes, Transporter Certified	> 4 million viable cells	HMCP QC
Human Plateable Hepatocytes, Induction Qualified	> 4 million viable cells	HMCP IS
Human Plateable Hepatocytes, Metabolism Qualified	> 4 million viable cells	HMCP MS
Human Plateable Hepatocytes, Uptake Qualified	> 4 million viable cells	HMCP US
Human Plateable Hepatocytes, 5-Donor	> 6 million viable cells	HMCP P5
Human Kupffer Cells	> 1 million viable cells	HUKCCS
Activated Human Myofibroblastic Hepatic Stellate Cells	> 1 million viable cells	HMFHSC
Human Cryopreserved Suspension Hepatocytes		
Human Suspension Hepatocytes, Transporter Qualified	> 4 million viable cells	HMCS TS
Human Suspension Hepatocytes, Metabolism Qualified, Male	> 4 million viable cells	HMCS 1S
Human Suspension Hepatocytes, Metabolism Qualified, Female	> 4 million viable cells	HMCS 2S
HEP10, Pooled Human Hepatocytes, 10-Donor	> 4 million viable cells	HMCS 10
Human Pooled Suspension Hepatocytes, 50-Donor	> 4 million viable cells	HMCS 50
Animal Suspension and Plateable Cryopreserved Hepatocytes and Kupffer Cells (Please inquire for minipig, guinea, and other custom species.)		
Dog (Beagle) Hepatocytes, Male	> 4–8 million viable cells	DGCS 10
Dog (Beagle) Hepatocytes, plateable Male	> 4–8 million viable cells	DGCP 10
Monkey (cynomolgus) Hepatocytes, Male	> 4–8 million viable cells	MKCS 10
Monkey (cynomolgus) Hepatocytes, Plateable Male	> 4–8 million viable cells	MKCP 10
Mouse (CD-1) Hepatocytes, Male	> 4–8 million viable cells	MSCS 10
Mouse (CD-1) Hepatocytes, Female	> 4–8 million viable cells	MSCS 20
Mouse (CD-1) Hepatocytes, Plateable Male	> 4–8 million viable cells	MSCP 10
Mouse (CD-1) Cryopreserved Hepatocytes, Plateable Female	> 4–8 million viable cells	MSCP 20
Rat (Sprague-Dawley) Hepatocytes, Male	> 4–8 million viable cells	RTCS 10
Rat (Sprague-Dawley) Hepatocytes, Female	> 4–8 million viable cells	RTCS 20
Rat (Sprague-Dawley) Hepatocytes, Plateable Male	> 4–8 million viable cells	RTCP 10
Rat (Sprague-Dawley) Hepatocytes, Plateable Female	> 4–8 million viable cells	RTCP 20
Rat Kupffer Cells	> 1 million viable cells	RTKCCS

\* 注 : Gibco™ Human Cryopreserved Hepatocytes, Transporter Qualified (ヒト凍結肝細胞, トランスポーター用) は B-CLEAR™ 試薬に対する適応性が評価されておらず、本製品の購入によって B-CLEAR™ 技術を実用化する権利が譲渡されることはありません。

## Ordering information, continued

製品名	サイズ	製品番号
Media and Reagents for Hepatocyte Culture		
Hepatocyte Thaw Medium	45 mL	CM7500
Cryopreserved Hepatocytes Recovery Medium (CHRM™)	50 mL	CM7000
Williams' E Medium, no phenol red	500 mL	A1217601
Primary Hepatocyte Thawing and Plating Supplements	1 kit for 500 mL medium	CM3000
Primary Hepatocyte Maintenance Supplements	1 kit for 500 mL medium	CM4000
Cryopreserved Hepatocytes Plating Medium (CHPM)	50 mL	CM9000
HepExtend Supplement (50X)	10 mL	A2737501
Collagen-coated plate, 6-well	1 plates	CM1006
Collagen-coated plate, 24-well	1 plates	CM1024
Collagen-coated plate, 96-well	1 plates	CM1096
Geltrex Reduced Growth Factor Basement Membrane Matrix	5 mL	A1413202



## 肝ミクロソーム

- 再現性のある長期試験向けの大容量のプールロット
- S9、サイトゾルをはじめとする他の細胞画分もご用意

肝小胞体由来の細胞画分には、医薬品候補の *in vitro* 代謝の評価に用いられる種々の代謝酵素が含まれており (表 6)、次の種々の実験に適しています。

- チトクロム P450 阻害試験
- 代謝安定性
- チトクロム P450 フェノタイピング
- 代謝物の特性決定

当社では、ヒトをはじめとする毒性学に用いられるさまざまな種の肝細胞画分をご提供しています。各製品にはドナーの平均的な典型的プールが含まれています。ヒトミクロソームのプールは、GLP 基準に従い、FDA の推奨する基質を使用して主要なチトクロム P450 活性と一部の第 II 相酵素の特性 ( $K_m$  および  $V_{max}$ ) が完全に決定されています (表 7 および 8)。

表 6. 肝細胞画分に存在する代謝酵素

Metabolic enzymes	Liver microsomes	Liver S9 fractions	Liver cytosol
Aldehyde oxidase		x	x
Cytochromes P450 (CYP)	x	x	
Flavin monooxygenases (FMO)	x	x	
Glutathione transferase (GST)		x	
Monamine oxidase (MAO)		x	
Sulfurotransferases (SULT)		x	x
Uridine glucuronide transferase (UGT)	x	x	

### 以下の種の細胞画分ご用意しています。

- ヒト (シングルドナー、プールドナー)
- ラット (Sprague-Dawley)
- マウス (CD-1)
- イヌ (ビーグル)
- 非ヒト霊長類 (カニクイザル)

## ヒトおよび動物肝ミクロソームの解凍・インキュベーションプロトコル

- 被験物質を溶媒に溶かして 100 倍のストック溶液を調製します。
- ミクロソームを氷上でゆっくりと解凍します。
- 以下を混合して全量 198  $\mu$ L とします。
  - 183  $\mu$ L の 100 mM バッファー
  - 10  $\mu$ L の 20 mM NADPH (最終濃度 1 mM)
  - 5  $\mu$ L のミクロソーム (最終タンパク質濃度 0.5 mg/mL)
3. の混合物を 5 分間ウォーターバスに浸してプレインキュベートします。
- 100 倍の被験物質ストック溶液を 2  $\mu$ L 添加して反応を開始します。
- 穏やかに攪拌しながら 37°C で最大 60 分間インキュベートします。
- 有機溶媒 (酢酸エチル等) を 200  $\mu$ L 添加して反応を停止させます。
- 有機層にさらに 25  $\mu$ L の内部標準を添加します。
- サンプルをボルテックスした後約 3000 rpm で 5 分間遠心します。
- 有機層を清潔なプレートに移して蒸発乾固させます。
- 移動相を溶媒としてサンプルを調製し、生じた代謝物を LCMS/MS で分析します。

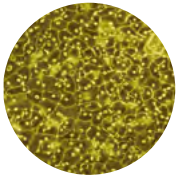
表 7. Gibco™ ヒト肝ミクロソーム (50 ドナープール) の任意ロットのキネティックパラメーター

Isoform	Metabolite	$K_m$ ( $\mu$ M)	$V_{max}$ (nmol/min/mg)
CYP1A2	Acetaminophen	78	0.73
CYP2A6	7-Hydroxycoumarin	1.1	0.53
CYP2B6	Hydroxybupropion	64	0.29
CYP2C8	6 $\alpha$ -Hydroxypaclitaxel	5.5	0.15
CYP2C9	Hydroxytolbutamide	220	0.19
CYP2C19	4'-Hydroxymephenytoin	34	0.031
CYP2D6	Dextrophan	3.2	0.13
CYP2E1	6-Hydroxychlorzoxazone	70	1.4
CYP3A4	6 $\beta$ -Hydroxytestosterone	19	4.0
CYP3A4	1'-Hydroxymidazolam	1.6	1.1



表 8. Gibco™ ヒト肝マイクロソームを使って試験したチトクロム P450 および第 II 相酵素

モニターした酵素	マーカー	基質インキュベーション (分)	タンパク質濃度 (mg/mL)	代謝物
CYP1A1/2	Phenacetin	30	0.1	Acetaminophen
CYP2A6	Coumarin	5	25	7-Hydroxycoumarin
CYP2B6	Bupropion	20	0.25	Hydroxybupropion
CYP2C8	Paclitaxel	10	0.075	6 $\alpha$ -Hydroxypaclitaxel
CYP2C9	Tolbutamide	20	0.1	Hydroxytolbutamide
CYP2C19	(S)-Mephenytoin	30	0.1	4'-Hydroxymephenytoin
CYP2D6	Dextromethorphan	15	0.2	Dextrorphan
CYP2E1	Chlorzoxazone	20	0.1	6-Hydroxychlorzoxazone
CYP3A4/5	Midazolam	4	0.025	1'-Hydroxymidazolam
CYP3A4/5	Testosterone	7	0.05	6 $\beta$ -Hydroxytestosterone
CYP4A11	Lauric acid	15	0.2	12-Hydroxydecanoic acid
FMO	Methyl p-tolylsulfide	15	0.05	Methyl p-tolylsulfoxide
UGT	7-Hydroxycoumarin	30	0.2	7-Hydroxycoumarin glucuronide

**Ordering information**

製品名	サイズ	製品番号
Human and animal liver microsomes, 20 mg/mL		
Human Microsomes, 50 Donors	0.5 mL	HMMCPL
Human Microsomes, 20 Donors, Male Donors	0.5 mL	HMMCPM
Dog (Beagle) Microsomes	0.5 mL	DGMCPL
Monkey (Cynomolgus) Microsomes	0.5 mL	MKMCPL
Monkey (Rhesus) Microsomes	0.5 mL	RHMCPL
Mouse (Balb-c) Microsomes	0.5 mL	BCMCPPL
Mouse (CD-1) Microsomes	0.5 mL	MSMCPL
Rat (Sprague Dawley) Microsomes	0.5 mL	RTMCPL
Human and animal S9 fractions, 20 mg/mL		
Human S9 Fractions	1.0 mL	HMS9PL
Monkey (Cynomolgus) S9 Fractions	1.0 mL	MKS9PL
Monkey (rhesus) S9 Fractions	1.0 mL	RHS9PL
Mouse (Balb-c) S9 Fractions	1.0 mL	BCS9PL
Mouse (CD-1) S9 Fractions	1.0 mL	MSS9PL
Rat (Sprague Dawley) S9 Fractions	1.0 mL	RTS9PL
Human and animal cytosol, 20 mg/mL		
Human Cytosol	1.0 mL	HMCYPL
Mouse (CD-1) Cytosol	1.0 mL	MSCYPL
Rat (Sprague Dawley) Cytosol	1.0 mL	RTCYPL

## CYP450 Baculosomes Plus Reagent と Vivid Screening Kit

Gibco™ Cytochrome P450 Baculosomes™ Plus Reagent はヒト CYP450 アイソザイムおよびヒトチトクローム P450 レダクターゼを含み、組み換えバキュロウイルスを感染させた昆虫細胞から調整したマイクロソームです。Gibco™ Vivid™ CYP450 Screening Kits は酵素 - 薬物相互作用および CYP450 阻害の検出ができるハイスループット用蛍光アッセイです。

- 詳細な薬物代謝研究用の単一ヒト P450 アイソザイム
- 簡易な 3 ステップ操作
- 高シグナル/バックグラウンドノイズ比と幅広いダイナミックレンジ
- 96 ウェルから 1536 ウェルまで複数のフォーマットに対応

### 単一の過剰発現ヒト CYP450 アイソザイム

Cytochrome P450 Baculosomes Plus Reagent はただ一種類の CYP450 アイソザイムを発現し、その他の CYP450 やその他クラスの薬物代謝酵素による代謝を避けることでヒト肝マイクロソーム (HLMs) について際立った利点を提供しています。

### 明るい蛍光シグナルとバックグラウンドの低い Vivid 試薬

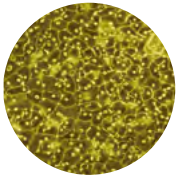
Vivid 蛍光発光性基質は、切断または水酸化を受けるまで蛍光発光が最小限に抑制されたブロック化色素です。2 か所の酸化可能部位のどちらかが酸化されると強度発光の蛍光発光産物を放出します。この産物は従来の蛍光発光プローブと比較して優れた蛍光性、溶解性およびキネティクス特性を示します。その結果、高度な感受性、より大きなシグナル/ノイズ比、および優れたアッセイ再現性を示します。Vivid™XX 基質は本キットに含まれています。青色、緑色、赤色またはシアン色から蛍光産物基質を選択できます。

### 最適な結果を得るための柔軟なアッセイフォーマット

Gibco™ Vivid™ CYP450 アッセイ感度は弱い阻害剤を検出可能です。一反応あたり 2 μL まで系を微細化できます。アッセイはキネティックモードまたはエンドポイントモードで設定可能で、マルチプレートによるスクリーニングを簡易化できます。アッセイは室温または 37°C で実施することができます。

CYP450 酵素と Vivid™ スクリーニングキットの全リストは以下のウェブサイトを参照ください。

[www.thermofisher.com/admetox](http://www.thermofisher.com/admetox)



創薬

## ADME/Tox 試薬サポート

### ADME/Tox 試薬プロトコル

- トリパンプルー排出解析を用いた初代培養肝細胞の細胞数計測
- 浮遊型肝細胞を使った代謝安定性評価
- プレート培養肝細胞を使った代謝安定性評価
- プレート培養肝細胞での誘導試験
- クッパー細胞と肝細胞の共培養

### 製品選びに関するサポート

製品に関するご注文・お問い合わせは販売代理店までお願いいたします。

### ウェブサイト:

[thermofisher.com/admetox](https://thermofisher.com/admetox)

### テクニカルサポート

Email: [jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com)

Phone: 0120-477-392





研究用에만使用できます。診断目的およびその手続き上での使用はできません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

For Research Use only. Not for use in diagnostic procedures. © 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

TaqMan is a registered trademark of Roche Molecular Systems, Inc., used under permission and license.

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc

販売店

GIB051-C19070B

## サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフテクノロジーズジャパン株式会社

テクニカルサポート ☎ 0120-477-392 ✉ [jptech@thermofisher.com](mailto:jptech@thermofisher.com)

オーダーサポート TEL: 03-6832-6980 FAX:03-6832-9584

営業部 TEL: 03-6832-9300 FAX:03-6832-9580

 [facebook.com/ThermoFisherJapan](https://www.facebook.com/ThermoFisherJapan)

 [@ThermoFisherJP](https://twitter.com/ThermoFisherJP)

[thermofisher.com](https://www.thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC