

# Corning® Gentest™ 凍結ヒト肝細胞

## よくある質問と回答

CORNING

### 1. ヒトドナーに関するどのような情報が入手可能でしょうか？

通常提供可能な情報は、年齢、性別、人種、喫煙などの生活履歴、処方薬の使用歴、主な病歴と死因です。さらに、様々な病原体に対する血清中の抗体価です。

### 2. Corning Gentest ヒト肝細胞は、病原性、感染性因子に関して検査をおこなっていますか？ コーニングでは何か安全措置を取っていますか？

ヒト肝細胞で病原性、感染性に関して、完全に安全なヒト組織から調製されたものではありません。取り扱う際には一般的な取り扱い上の注意に従い、原材料は感染症の可能性があると思っ  
て対応してください。弊社の凍結肝細胞はヒト免疫不全ウイルス (HIV-1/HIV-2)、ヒト T 細胞白血  
病ウイルス (HTLV-1/HTLV-2)、B 型肝炎ウイルス (HBV)、C 型肝炎ウイルス (HVC) とサイト  
メガウイルスが陰性であることを確認しています。しかしながら、ヒト由来試料が感染症の  
原因とならないことを完全保証する方法は知られていません。使用や廃棄する際には、CDC\* や  
FDA の推奨、OSHA bloodborne pathogen の推奨\*\* に記載されている予防措置に従って  
ください。

\* CDC (Center of disease control and prevention) はアメリカ疾病予防管理センター

\*\* OSHA bloodborne pathogen の推奨は、アメリカ労働安全衛生管理局が出しているヒト検体取り扱いについての  
勧告

### 3. 凍結肝細胞で、凍結融解を繰り返してもよいですか？

肝細胞を再凍結することはお勧めしません。再凍結すると細胞の生存率と収率が著しく低下  
します。

### 4. 創薬では、いつ肝細胞を使用しますか？

肝細胞は、創薬のどのステージでも使用することができます。毒性、代謝安定性、酵素誘導、  
薬物相互作用を決めたり、薬物候補スクリーニングのための *in vitro* モデルに最も適しています。

**5. 肝細胞は、ヒト肝マイクロゾーム (HLMs) や Corning® Supersomes™ 酵素とどのように違うのですか?**

肝細胞は、細胞そのものです。一方で、マイクロゾームと Corning Supersomes 酵素は、細胞画分です。そのため、肝細胞は完全な Phase I と Phase II 代謝システムを含んでいますが、細胞画分はすべてを含んではいません。肝細胞は酸化代謝、グルクロン酸および硫酸抱合を直接観察できます。HLMs は、NADPH 添加によって、酸化代謝を観察でき、抱合体反応を観察するには、UGTs のために UDPGA 添加と他の経路のためにコファクターをさらに添加する必要があります。一般的に、UGTs は、肝細胞に比べてマイクロゾームでの活性が定量的に低いようです。Corning Supersomes 酵素は、肝臓のマイクロゾームと同様の働きを示し、入っている酵素がより限定されていますが、その代わりに実験の目的をより明確化できます。

**6. 肝細胞は、*in vivo* 研究と同等ですか?**

肝細胞は、一般的に *in vivo* 代謝研究に近いと考えられていますが、標準的な比較法はありません。

**7. Corning Life Sciencesの肝細胞は *in vitro* 代謝、または誘導試験で使用されていますか?**

はい。Corning Gentest™ 誘導性凍結ヒト肝細胞は、代謝酵素の誘導試験に理想的です。Corning Gentest 代謝試験用凍結ヒト肝細胞は、薬物や薬物候補化合物の代謝試験に理想的です。

**8. グルクロン酸抱合、または硫酸抱合代謝活性での7-HFC (7-hydroxy 4-trifluoromethyl-coumarin) の役割は?**

ヒト肝細胞では、7-HCF は主に UGT グルクロン酸化活性を測定するための基質です。硫酸抱合活性も起こりますが、ヒト肝細胞ではグルクロン酸抱合活性に比較してわずかです。

**9. 肝細胞にコファクターやサイトゾールを添加する必要はありますか?**

いいえ。肝細胞は、Phase I と Phase II 薬物代謝に必要なすべてのコファクター (例: NADPH や UDPGA) を含んでいます。

**10. 代謝アッセイでの (凍結) 肝細胞の推奨細胞密度はどのくらいですか?**

推奨肝細胞播種密度は、 $0.5 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$  cells/mLです。

**11. テスト化合物の溶解には、どの溶媒を使用したらよいですか?**

好ましい溶媒としては、Dimethyl Sulfoxide(DMSO) を、0.2%以下の濃度で使用してください。例えば誘導試験では、細胞培養培地中の DMSO 最終濃度を0.1%以下にすることを推奨します。

## 12. フラスコやマルチウェルプレートに播種する際のヒト肝細胞の推奨細胞密度はありますか？

肝細胞は $2.0 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup> で播種します。誘導/酵素試験の較正データのために、各単層膜の総タンパク質評価法を推奨します。

## 13. Corning® Gentest™ ヒト肝細胞はいつでも購入可能ですか？

凍結ヒト肝細胞は、米国で常にストックしており、米国から直送でお届け可能です。

## 14. Corning Gentest の肝細胞の酵素活性はどのように特長づけられていますか？

凍結肝細胞は、代謝試験用、トランスポーター試験用、誘導性肝細胞の3つのカテゴリーに分類できます。特性化アッセイは、下記のとおりです。

### 代謝試験用凍結ヒト肝細胞：

Phenacetin O-deethylase (CYP1A2)、 Bupropion hydroxylase (CYP2B6)、 amodioquine N-demethylase (CYP2C8)、 diclofenac 4'-hydroxylase (CYP2C9)、 bufuralol 1'-hydroxylase (CYP2D6)、 testosterone 6 $\beta$ -hydroxylase (CYP3A)、 AZT-glucuronidation (UGT2B7) と7-hydroxycoumarin-glucuronidation (非選択的 UGT基質)

### トランスポーター試験用凍結ヒト肝細胞：

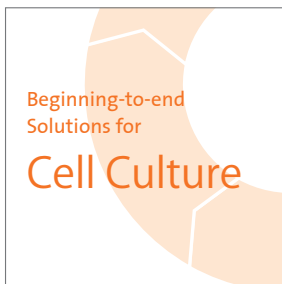
Estrone-3-sulfate uptake (OATP)、 Tetraethylammonium bromide の取り込み活性 (OCT1) と taurocholate の取り込み活性 (NCTP)

### 誘導性凍結ヒト肝細胞：

20  $\mu$ M rifampicin を用いた testosterone 6 $\beta$ -hydroxylase 活性 (CYP3A) の誘導試験と 20  $\mu$ M  $\beta$ -naphthoflavone を用いた Phenacetin O-deethylase 活性 (CYP1A2) の誘導試験

### 凍結動物肝細胞の酵素活性：

- ▶ **ラットとマウス**：testosterone 6 $\beta$ -hydroxylase、7-hydroxycoumarin sulfation と glucuronidation
- ▶ **イヌ**：ラットとマウスと同じアッセイと testosterone 16 $\beta$ -hydroxylase、phenacetin O-deethylase、bufuralol 1'-hydroxylase と chlorzoxazone 6-hydroxylase
- ▶ **カニクイザル**：ラットとマウスと同じアッセイと testosterone 16 $\beta$ -hydroxylase、phenacetin O-deethylase、bufuralol 1'-hydroxylase と p-nitrophenol hydroxylase



[www.corning.com/lifesciences/solutions](http://www.corning.com/lifesciences/solutions)

At Corning, cells are in our culture. In our continuous efforts to improve efficiencies and develop new tools and technologies for life science researchers, we have scientists working in Corning R&D labs across the globe, doing what you do every day. From seeding starter cultures to expanding cells for assays, our technical experts understand your challenges and your increased need for more reliable cells and cellular material.

It is this expertise, plus a 160-year history of Corning innovation and manufacturing excellence, that puts us in a unique position to offer a beginning-to-end portfolio of high-quality, reliable cell culture consumables.

- ・ 商品の外観・仕様は予告無しに変更することがあります。予めご了承ください。
- ・ For a listing of trademarks, visit us at [www.corning.com/lifesciences/trademarks](http://www.corning.com/lifesciences/trademarks)
- ・ All other trademarks in this document are the property of their respective owners.
- ・ 保証・免責事項：特に記載がない限り、記載中の製品は研究用機材および試薬です。診断、または治療用途には使用しないでください。また人体には使用しないでください。コーニングライフサイエンスは本製品の臨床または診断用途でのいかなるパフォーマンスについても保証しません。

**CORNING**

**FALCON®**

**AXYGEN®**

**PYREX®**

**GOSSSELIN™**

総販売元

**コーニングインターナショナル株式会社  
ライフサイエンス事業部**

〒107-0052 東京都港区赤坂 1-11-44 赤坂インターシティ7階  
Tel : 03-3586-1996 Fax : 03-3586-1291  
[www.corning.com/lifesciences](http://www.corning.com/lifesciences)  
[CLSJP@corning.com](mailto:CLSJP@corning.com)

技術サポートへのお問い合わせは  
Tel : 03-3586-1268  
[ScientificSupportJP@corning.com](mailto:ScientificSupportJP@corning.com)