

Corning® TransportoCells™ HEK293 由来 ABC トランスポーター ベシクル

CORNING

ATP Binding Cassette (ABC) トランスポーターは薬物排泄において重要であり、薬物動態、薬効、安全性に大きな影響を与えます。BCRP と P-gp の二つの ABC トランスポーターは、最近の規制ガイドランスで薬物相互作用を確認するのに重要なトランスポーターとみなされています。薬物性肝障害で BSEP と MRP2の重要性が同定された事により、規制当局は新規化合物の評価の際に BSEP と MRP2を含むように次回の改正から加えます。排出トランスポーターは、細胞膜上に局在しています。この局在と基質の物理化学的特性の組み合わせから、閉じた袋状の小胞構造体 (ベシクル) は、ABC トランスポーターの薬物相互作用の研究スタンダードとして使用されています。

一般に使用されている膜ベシクルは、バキュロウイルスで遺伝子導入した Sf9細胞を使用して製造されています。このシステムを使用した場合の欠点は、哺乳類細胞とは異なる膜構造、異なるタンパク翻訳後修飾による異なる機能と一貫性の欠如です。コーニングは、Corning TransportoCells HEK293由来 ABC トランスポーターを開発し、哺乳類細胞遺伝子発現システムを使用して製造しています。

コーニングの HEK293細胞由来ベシクルは、ヒト細胞膜メンブレンのヒト様トランスポータータンパクをより多く発現しています。これらの HEK 膜ベシクルは、昆虫細胞由来のベシクルに比較して、明らかに高い uptake 活性と低いバックグラウンドを示しています。有効的なベシクルモデルは、より *in vivo* に近いリコンビナントタンパク質と膜構造を持つので *in vitro* / *in vivo* 予測を改善する可能性があります。

Corning TransportoCells ベシクルモデルの特長と利点

哺乳類細胞発現システム

Corning TransportoCells ベシクルモデルは、バキュロウイルス/昆虫細胞ベシクルに比べ *in vivo* に近い組み換えタンパク質と細胞膜組成を持つため、よりよい *in vitro* / *in vivo* 相関性を示す可能性があります。



信頼と安定性

Corning TransportoCells ベシクルは、昆虫細胞発現システムより明らかに高い uptake 活性と低いバックグラウンドの安定したダイナミックレンジを示しています。

モデルは、既存のベシクルモデルのデータと一貫性があるかを確認するために基質特異性、トランスポーターキネティックと阻害プロファイルのすべてを検証しています。

規制当局の推奨をサポート

Corning TransportoCells ベシクルモデルは、試験研究中の薬の開発において重要な薬物トランスポーターの同定と薬物相互作用の研究における USFDA、EMA と ICT の推奨をサポートします。

バイオセーフティの懸念を低減

Corning TransportoCells ABC ベシクルは、バキュロウイルスを使用しない HEK293を用いて改変した製品のため、カルタヘナ法該当の懸念が不要です。

アプリケーション

- ▶ 薬物トランスポーターフェノタイプング
- ▶ 薬物相互作用と毒性研究
- ▶ 薬物クリアランス予測
- ▶ 薬物トランスポーターの機構研究

Uptake活性性能

Table1. HEK293細胞由来 ABC トランスポーターベシクルの性能 ATP、または AMP の存在下での MDR1/P-gp、BSEP、MRP2、BCRP ベシクルの uptake 活性。リストに記載されている典型的な基質をベシクルと一緒にインキュベートして評価。示された濃度はリニア範囲内の時間でのもの。Uptake 比は、ATP 存在下での uptake 活性を AMP の存在下での活性で割り算して計算。

Transporters	Probe Substrate	Probe Substrate Conc. (μM)	Incubation Time (min.)	Uptake with ATP (pmol/mg/min.)	Uptake with AMP (pmol/mg/min.)	Signal-to-Noise Ratio (S/N)
Human MDR1/P-gp	N-methyl-quinidine	5	2	2,762	62	45
Human BSEP	Taurocholic Acid	1	5	78	3.1	25
Human MRP2	Estradiol-17 β -glucuronide	50	5	3,948	58	68
Human BCRP	Estrone-3-sulfate	1	2	60.4	4.1	15
Human MRP3	Estradiol-17 β -glucuronide	1	5	49.3	4.4	11
Human MRP4	Dehydroepiandrosterone 3-sulfate	2	5	49.9	4.3	12

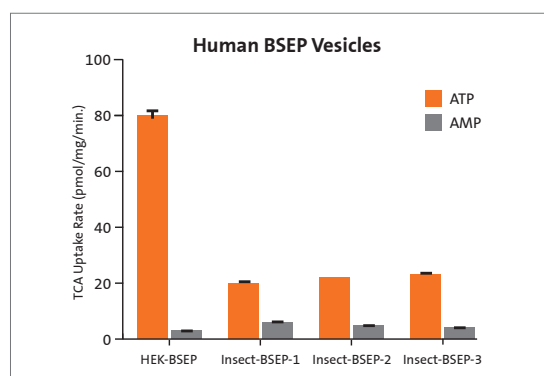


Figure 1. 哺乳類細胞由来と昆虫細胞由来の ABC トランスポーターベシクルの uptake ダイナミクスの比較 1 μM taurocholic acid (TCA) の ATP 依存性 uptake とシグナル/ノイズ比は3種類の市販されている昆虫細胞ベースの発現系システムで製造した BSEP ベシクルと比較して、明らかに HEK293-BSEP ベシクルの方が高い。

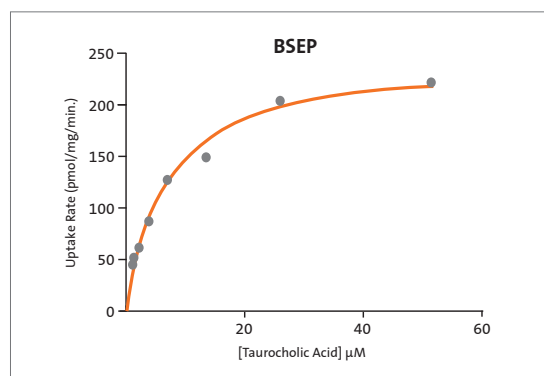


Figure 2. キネティックアッセイ 実線は、ATP 依存 uptake 活性の非線形回帰を示しており、ATP 存在下での uptake 活性から AMP 存在下での uptake 活性を引き算することで計算。リストのABCトランスポーターの K_m と V_{max} 値は、文献に記載されているデータ、または昆虫細胞由来のベシクルを使用して取ったコーニングの社内データと同等。

Corning® HEK293 ABCトランスポーター メンブレン ベシクル

Transporter	Substrate	当ベシクルで得た値		文献値	
		K_m (μM)	V_{max} (pmol/mg/min.)	K_m (μM)	V_{max} (pmol/mg/min.)
Human MDR1/P-gp	NMQ	4.9	4,624	3.65 ^a	656 ^a
Human BSEP	TCA	6.3	241	8.4 ^b	20.1 ^b
Human MRP2	E17 β G	124	5,751	148 ^b	1,203 ^b
Human MRP3	E17 β G	4.0	116	9.1 ^c	116 ^c
Human MRP4	DHEAS	4.0	61	3.5 ^c	387 ^c
Human BCRP	E3S	7.1	272	14.2 ^b	506 ^b

^a Herédi-Szabó K, et al. Eur J Pharm Sci. 2013, 49(4):773-81.

^b Corning 昆虫細胞由来ベシクルでの値

^c Kock k, et al. Drug Metab Dispos. 2014, 42:665-674

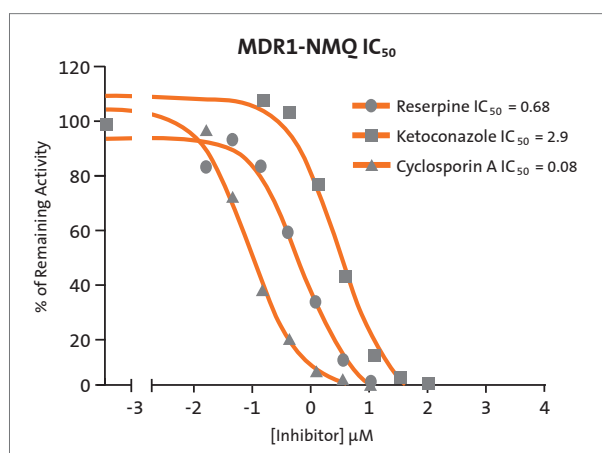


Figure 3. 阻害アッセイ IC₅₀値は、様々な濃度の阻害剤と ATP、または AMP 存在下で、ベシクルとプローブ基質 NMQ を一緒にインキュベートした時の値。データは、残存している ATP 依存 uptake 活性のパーセンテージを示している。IC₅₀ 値 (単位: μM) は、文献で公開されている値、または昆虫細胞由来のベシクルを使用して取ったコーニングの社内データと同等。

Corning HEK 293由来 ABC トランスポーター メンブレン ベシクル

Transporter	Substrate	Inhibitor	当ベシクルで得た値	文献値
			IC ₅₀ (μM)	IC ₅₀ (μM)
Human MDR1/P-gp	NMQ	Ketoconazole	2.9	3.77 ^a
		Cyclosporin A	0.08	0.147 ^a
		Reserpine	0.68	0.62 ^a
Human BSEP	TCA	Troglitazone	2.4	2.7 ^b
		Glibenclamide	1.7	5.3 ^b
		Ketoconazole	1.1	2.9 ^b
Human MRP2	CDCF	MK571	2.5	6.2 ^c
		Terfenadine	103	45.8 ^c
		Indomethacin	41	90.8 ^c
Human MRP3	E17 β G	MK571	9.8	20.3 ^c
		Fidaxomicin	0.58	1.3 ^c
		Furosemide	108	252 ^c
Human MRP4	DHEAS	MK571	2.1	10 ^d
		Indomethacin	5.8	6.1 ^d
		Quercetin	1.6	1.2 ^d
Human BCRP	E3S	Sulfasalazine	0.42	0.7 ^c
		Fumitremorgin C	0.13	0.1 ^c
		Nobomycin	0.1	0.6 ^c

^a Herédi-Szabó K, et al. Eur J Pharm Sci., 2013, 49(4):773-81.

^b Dawson S, et al. Drug Metab Dispos. 2012, 40(1):130-8.

^c Corning 昆虫細胞由来ベシクルでの値

^d Weu J, et al. J Pharmacol Exp Ther, 2015, 354:358-75

製品情報

カタログ番号	製品名	Gene Accession Number	タンパク濃度	包装	メーカー希望小売価格 (円)
453800	HEK293 由来 ネガティブ コントロールベシクル	N/A	5 mg/mL	0.5 mL	70,000
453801	HEK293 由来 ヒト MDR1/P-gp ベシクル	NM_000927	5 mg/mL	0.5 mL	85,000
453802	HEK293 由来 ヒト BSEP ベシクル	NM_003742	5 mg/mL	0.5 mL	85,000
453803	HEK293 由来 ヒト MRP2 ベシクル	NM_000392	5 mg/mL	0.5 mL	85,000
453804	HEK293 由来 ヒト BCRP ベシクル	NM_004827	5 mg/mL	0.5 mL	85,000
453805	HEK293 由来 ヒト MRP3 ベシクル	NM_003786	5 mg/mL	0.5 mL	85,000
453806	HEK293 由来 ヒト MRP4 ベシクル	NM_005845	5 mg/mL	0.5 mL	85,000
459010	MRP/BCRP ベシクル アッセイキット	N/A	—	200 回分	71,400
459011	BSEP ベシクル アッセイキット	N/A	—	200 回分	63,000

- ・ 価格は 2017 年 6 月現在のものです。価格は税抜き価格で記載しております
- ・ 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
- ・ 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

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
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