

凍結細胞製品

Rep-HepG2 cells

【Code No.REP-HEPG2C】

本製品は研究目的にのみご使用ください。

2024年6月1日作成

I. 製品概要

ヒト肝細胞は、薬物動態研究にとって必須の実験ツールの一つです。しかしながら、肝機能を高発現しているヒト初代肝細胞は、通常の培養法では増殖することがなく、薬物代謝機能を含めた肝機能は培養期間中に急激に低下していくことが知られています。さらに、ヒト初代肝細胞の入手経路は限られているため高価になりやすく、創薬研究での使用が制限されているのが現状です。一方で、入手のしやすさなどから広く使われている HepG2 細胞株をはじめとする肝がん由来細胞株は、その代謝活性が低い点等が問題となっています。これらの問題点を解決するために、新規の細胞培養法の工夫や増殖可能な初代ヒト肝細胞の代替肝細胞の創生が検討されています。

本製品は肝がん由来細胞でありながら、肝細胞の主要な機能である薬物代謝酵素活性（第Ⅰ相、第Ⅱ相反応）を高発現しており、基礎研究や薬物スクリーニング研究用のヒト肝細胞モデルとして期待されています。

※本製品は、国立がん研究センター研究所 分子細胞治療研究分野 Luc Gailhouste 先生に技術指導頂き開発した製品です。

II. 使用前注意事項

- 本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。
- 本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。
- 本製品の培養には別売の専用メディアムをご使用下さい。
- 本製品は HIV-1、HIV-2、HBV、HCV 陰性確認済みです。

～ヒト由来細胞の安全性について～

実施している感染症検査については本データシートに記載しておりますが、すべての感染症検査を実施しているわけではなく、また偽陰性や感染の可能性を完全に除くことはできないため、取扱の際には、感染の危険性を十分に考慮し、安全キャビネットの使用や感染防護の手袋やゴーグル・マスクの着用等の十分な対策を講じた上で、実験にご使用下さい。

また、取扱や廃棄に関しては所属や使用する施設の規定に従ってください。

III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディアム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

当社、製品サポート（メール：bio-products@cosmobio.co.jp）までご連絡下さい。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディアムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。



IV. 製品構成

構成	容量	本数	保存方法	有効期限
Rep-HepG2 cells (凍結細胞)	3.0×10 ⁶ cells/vial	1本	液体窒素保存	6ヶ月

受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください

V. 細胞の由来

Human Hepatocellular Carcinoma

VI. 専用メディアウム(別売)

品名	品番	構成	容量	数量	保存方法	有効期限
Rep-HepG2 Maintenance Medium	REP-HEPG2M	メディアウム	125mL	1本	-20℃保存 (解凍後は 4℃保存)	ボトルに記載 (-20℃保存) 解凍後は3ヶ月 (4℃保存)
		サプリメント	125μL	1本	-20℃保存	

培地の主成分：DMEM、血清、その他

VII. 操作方法

※本製品は【**継代不可**】です。

細胞解凍・播種

※下記は、24well プレートで培養する場合のプロトコールです。

【準備するもの】

- ・コラーゲンコート済み 24well 培養プレート
- ・Rep-HepG2 Maintenance Medium (用事調製)

※あらかじめ必要量の培養メディアウムを調製してください(メディアウム 10ml に対しサプリメント 10μL 添加)

- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 凍結細胞を含むクライオチューブを液体窒素から取り出し、すぐに 37℃ のウォーターバスで温めます。クライオチューブ内にほんの少しの氷が残るまで、37℃ のウォーターバス内でクライオチューブを静かに回転させ、細胞を急速に解凍します (90~120 秒間)。
2. 解凍した細胞液を含むクライオチューブをクリーンベンチ内に移動させます。開封前にクライオチューブの外側を 70%エタノールで清拭します。
3. 解凍した細胞液を、予め Rep-HepG2 Maintenance Medium 10 mL が入っている 15 mL 遠沈管に移します。緩やかに混合した後、4℃、170g で 3 分間遠心してください。
4. 上清を吸引除去し、メディアウムを 12.5ml 添加し再懸濁してください。
5. 上記の細胞懸濁液を 24well 培養プレートに 1 ウェル当たり 0.5ml ずつ播種し、5%CO₂ 存在下の 37℃インキュベーターで培養してください。(1 バイアルあたり 24well 培養プレート 1 枚分です)
6. 播種翌日に培地交換を行い、その後は 1~2 日に 1 回の培地交換を行ってください。
7. 培養開始後 3~5 日目よりご希望のアッセイに使用してください。

VIII. 技術情報

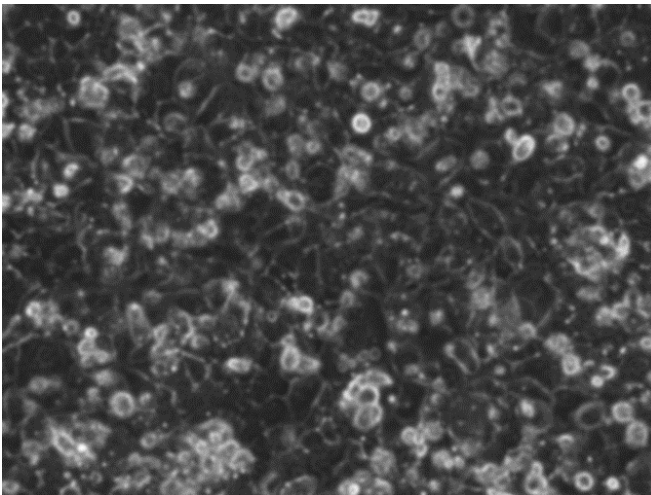


図1. Rep-HepG2 細胞培養翌日の位相差顕微鏡写真

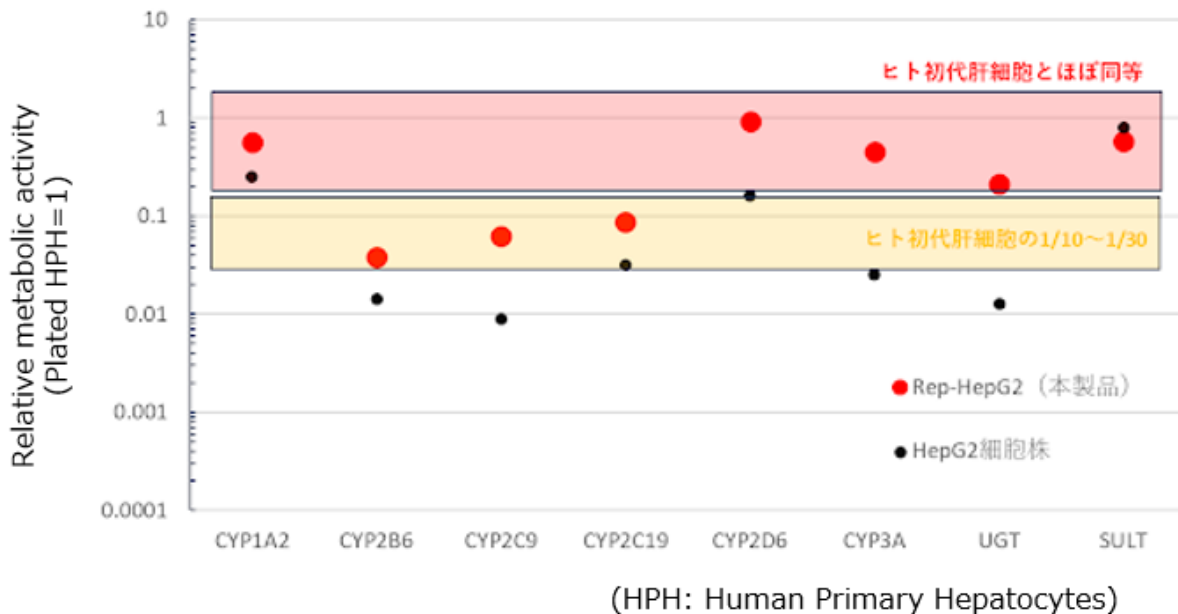


図2. ヒト初代肝細胞の薬物代謝酵素活性を1とした場合の、Rep-HepG2 細胞（培養4日目）およびHepG2細胞の酵素活性比

IX. 参考文献

1) Luc Gailhouste, Lee Chuen Liew, Ken Yasukawa, Keitaro Hagiwara, Norihiko Iwazaki, Yasuhiro Yamada, Izuho Hatada, Takahiro Ochiya. Epigenetic Reprogramming of Human Hepatoma Cells: A Low-Cost Option for Drug Metabolism Assessment. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. 2017 Nov 22;5(3):454-457.e1 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2017.11.006>