



Rep-HepG2 cells

【Code No.REP-HEPG2C】

For research use only. Not for clinical diagnosis.

March 4, 2025

I. Product Overview

Human hepatocytes are one of the essential experimental tools for pharmacokinetic studies. However, primary human hepatocytes, which express high hepatic function, do not proliferate in normal culture methods, and their hepatic function, including drug metabolism, is known to rapidly decline during the culture period. Furthermore, the limited availability of primary human hepatocytes tends to make them expensive, limiting their use in drug discovery research. On the other hand, hepatocellular carcinoma-derived cell lines, such as the HepG2 cell line, which is widely used due to its easy availability, have low metabolic activity, which is a problem. In order to solve these problems, new cell culture methods and the creation of hepatocyte substitutes for primary human hepatocytes that can proliferate are being investigated.

Although this product is a hepatocellular carcinoma-derived cell, it highly expresses drug-metabolizing enzyme activities (phase I and phase II reactions), which are the main functions of hepatocytes, and is expected to be used as a human hepatocyte model for basic research and drug screening studies.

※This product was developed under the technical guidance of Dr. Luc Gailhouste, Department of Molecular Cell Therapy, National Cancer Center Research Institute.

!Caution!

See attached “Please Read BEFORE USE”

All the products are required to perform during aseptic processing.

Use the specific media (sold separately) to culture this product.

This product has been confirmed negative for HIV-1, HIV-2, HBV, and HCV:

Use the optional medium for incubation.

～Safety of human-derived cells～

The information shall not be taken as being all inclusive and is to be used only as a guide. All materials and mixtures may present unknown hazards and should be used with caution. Since the Company cannot control the actual methods, volumes, or conditions of use, the Company shall not be held liable for any damages or losses resulting from the handling or from contact with the product as described herein. However, not all infectious disease tests are performed, and the possibility of false negatives or infection cannot be completely excluded. Therefore, when handling, please take sufficient measures such as using a safety cabinet, wearing infection-protective gloves, goggles, and masks, etc., before conducting experiments.

This material and its container must be disposed of according to approved disposal technique. Disposal of this product, its solutions or of any by-products, shall comply with the requirements of all applicable local, regional or national/federal regulations.

Warranty

We guarantee against growth failure after the start of culture only when cells are properly stored in liquid nitrogen and cultured according to the manual using the dedicated medium and reagents.

Our company, Product Support (e-mail: bio-products@cosmobio.co.jp) for more information on how to get in touch with us.

The warranty period is [within 6 months from receipt of product].

Please note that the warranty does not apply if any changes are made to the culture medium or method of use, or if re-frozen cells are used.

II. Component

Components	Size	Quantity	Storage	Expiration date
Rep-HepG2 cells (frozen vial)	3.0×10 ⁶ cells/vial	1vial	Liquid Nitrogen	6month

If you do not use the frozen cells immediately after receipt, please store them in liquid nitrogen.

III. Cell Origin

Human Hepatocellular Carcinoma

IV. Specific Medium (sold separately)

Product name	Catalog no.	Componen	Volume	Quantity	Storage	Validity period
Rep-HepG2 Maintenance Medium	REP-HEPG2M	Medium	125mL	1	Stored at -20°C (After Thawing Stored at 4°C)	Indicated on bottle (Stored at -20°C) After Thawing 3 month (Stored at 4°C)
		Supplement	125μL	1	Stored at -20°C	

Main components of culture medium: DMEM, serum, others

V. Instruction for Use

※This product is 【Subculture impossible】

Cell thawing and seeding

※The following is the protocol for culturing in 24 well culture plate.

【To be prepared】

- Collagen coated 24well culture plate.
- Rep-HepG2 Maintenance Medium (**Prepare just prior to use**)

※Prepare required culture media volum. (Add 10μL of supplement per 10ml of medium)

- Sterile pipettes, conical tubes, and other culture equipment

1. Remove the cryovial containing the frozen cells from liquid nitrogen storage and immediately place it into a 37°C water bath. Quickly thaw the cells by gently swirling the vial in the 37°C

water bath until there is just a small bit of ice left in the vial for 90~120 sec.

2. Transfer the vial it into a laminar flow hood. Before opening, wipe the outside of the vial with 70% ethanol.
3. Transfer the thawed cells dropwise into the 10mL pre-warmed Rep-HepG2 Maintenance Medium in 15mL centrifuge tube. Mix gently and centrifuge the cell suspension 170 x g for 3 min 4°C.
4. After the centrifugation, aspirate supernatant and resuspend the cells in Rep-HepG2 Maintenance Medium in 15mL
5. Dispense 0.5 mL of cell suspension to each well of 24-well plate and incubate the plate at 37°C in a 5% CO₂ humidified incubator (24well culture pate can usually be established from one vial containing .)
6. . Medium replacement should be performed next day, thereafter medium should be changed every 2 to 3 days.
7. Wait for 3-5 days before assaying for preferred assay.

Technical note

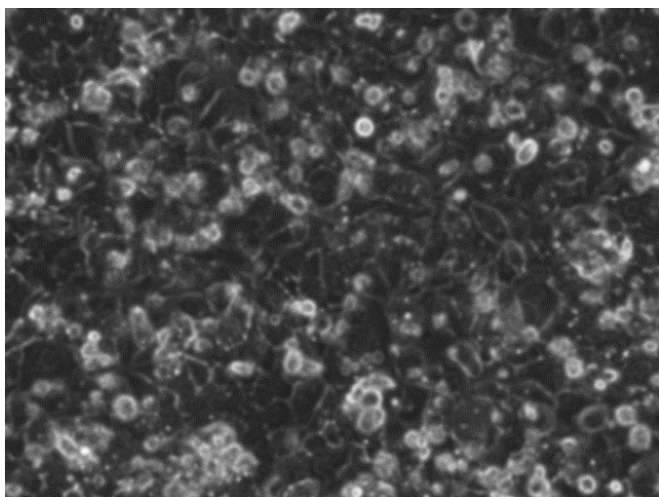


Figure 1. Phase contrast micrograph of Rep-HepG2 cells the day after culturing

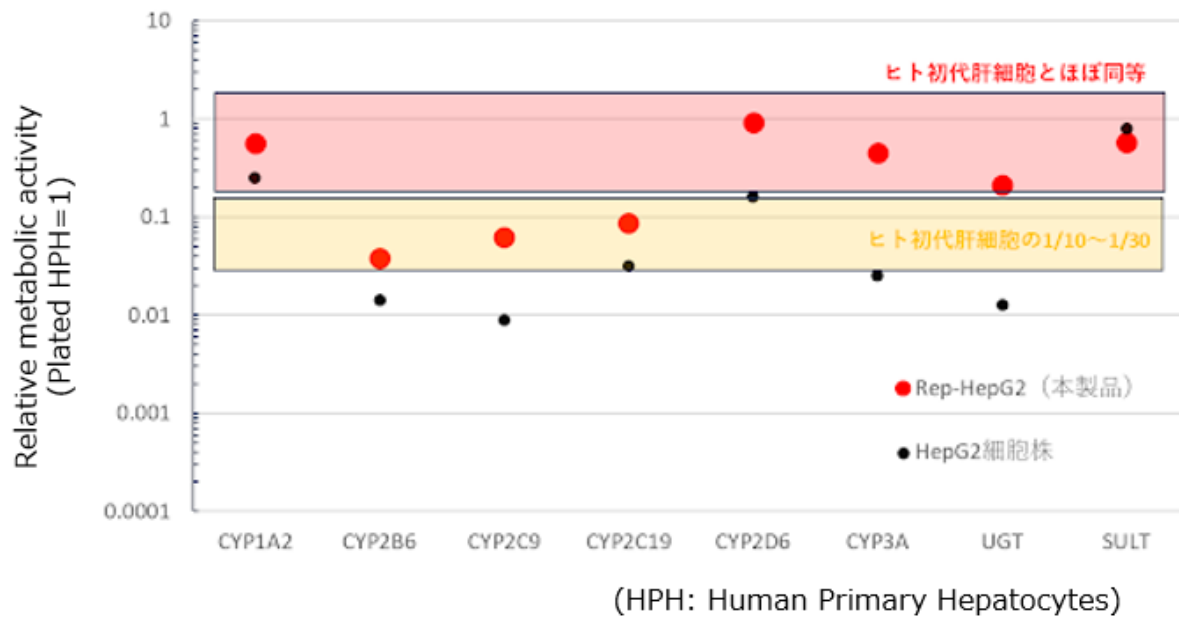


Figure 2. Drug metabolizing enzyme activity of primary human hepatocytes as 1,
Ratio of enzyme activity of Rep-HepG2 cells (day 4 culture) and HepG2 cells

VI. Refferance

- 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>



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ウムをご使用下さい。

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、専用メディウ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。

メディウ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

- 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旋回させ、細胞を急速に解凍します(90～120 秒間)。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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)
- 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。
- 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

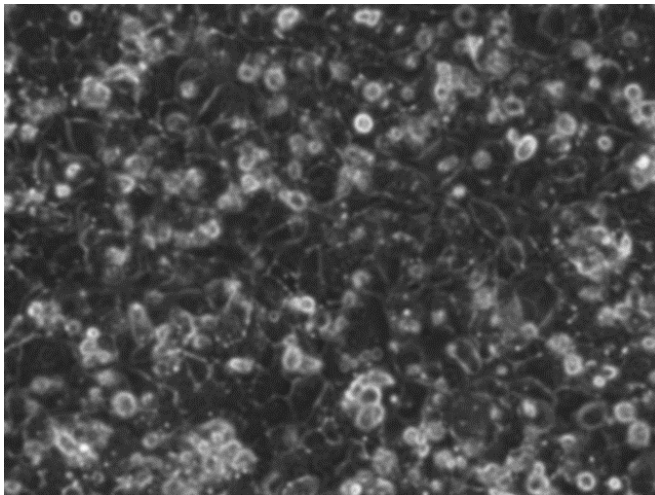


図1. Rep-HepG2 細胞培養翌日の位相差顕微鏡写真

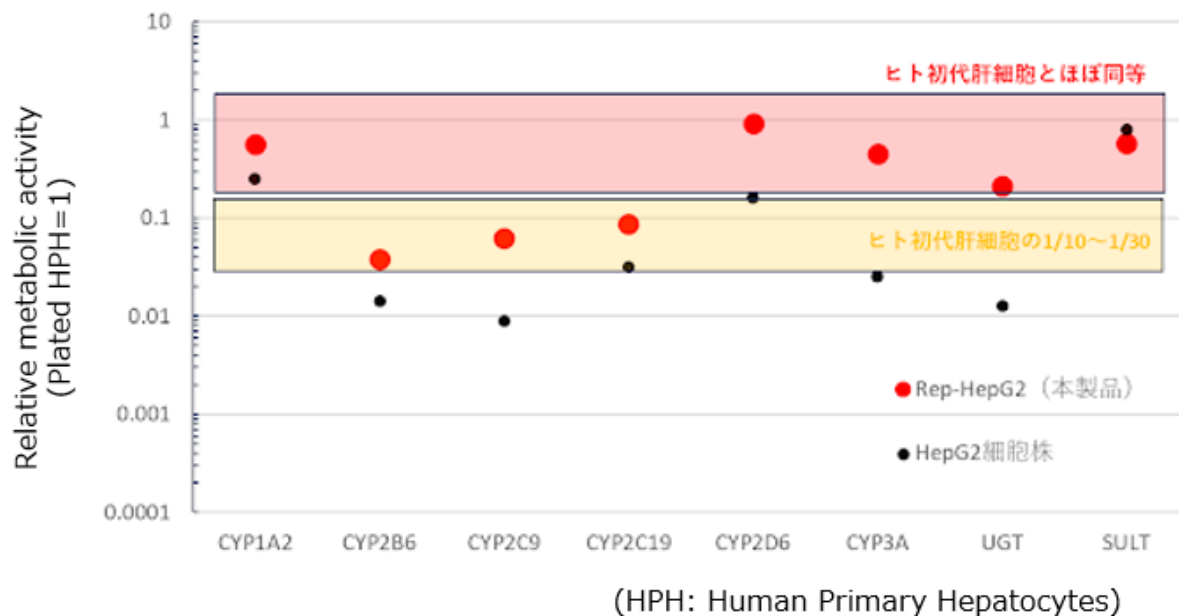


図2. ヒト初代肝細胞の薬物代謝酵素活性を1とした場合の、
Rep-HepG2 細胞（培養4日目）および HepG2 細胞の酵素活性比

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>