



初代細胞製品（培養細胞）

小型肝細胞培養キット(ラット)

【Small Hepatocyte Culture kit, 品番：SHC01, SHC02】

2024年7月1日改訂

本製品は研究目的にのみご使用になれます。

I. 製品概要

肝臓は生体内で最も多様な機能（血清タンパク質合成、血糖調節、尿素形成、胆汁形成、解毒等）を営んでいる臓器であり、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしています。これらの機能は肝臓全細胞中の65%を占める肝実質細胞（肝細胞）で行われています。したがって、肝細胞の培養系は肝臓の諸機能の研究及び薬物の生体内動態を調べる上で有用ですが、初代肝細胞は数日間で機能性が低下し長期培養には適していません。

小型肝細胞は、肝臓から分離した肝前駆細胞の一つであり、この小型肝細胞を成熟化させた成熟小型肝細胞は高い分化機能を持ち、肝細胞の重要な機能であるシトクロム P450 (CYP) など薬物代謝酵素活性の発現・誘導が可能です。さらに小型肝細胞は長期培養も可能のため、初代肝細胞では困難な薬剤の長期間暴露にも利用可能です。

本培養キットは、小型肝細胞を基底膜成分 (Matrigel™) 添加により成熟化誘導を行った培養細胞プレートに専用培地を組み合わせさせた製品です。肝細胞の機能解明、薬物代謝等の研究にご利用ください。

※本製品は、札幌医科大学フロンティア医学研究所・三高俊広教授にご指導頂き開発した製品です。

※本製品は、公益財団法人 北海道科学技術総合振興センター「研究開発助成事業」の助成を受けて開発した製品です。

※Matrigel™は Corning 社の登録商標です。

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。バイオセーフティーレベルは【レベル1】です。

本製品の培養には付属の専用培地をご使用下さい。

III. 製品の保証について

製品は培養された状態で納品されます。到着後すぐに CO2 インキュベーターに入れて培養を開始してください。

製品は保存できません。到着後速やかに実験にご使用ください。

製品は到着時又は翌日に細胞の状態を確認して下さい。

専用培地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、製品到着後の生育不良に関して保証いたします。

保証期限は【製品お受け取りから翌日まで】です。

また、増殖不良や分化不良に関しては、製品サポートまでお問い合わせ下さい。

培地や使用方法に変更を加えられた場合は、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

小型肝細胞培養キット P-4(ラット) Code: SHC01

構成	容量	本数
ラット小型肝細胞	96well U 底プレート	4 枚
培養用メディウム	250 mL	1 本

小型肝細胞培養キット P-2(ラット) Code: SHC02

構成	容量	本数
ラット小型肝細胞	96well U 底プレート	2 枚
培養用メディウム	130 mL	1 本

使用動物 : SD ラット 5~8 週齢・オス

発送日 : XXXX 年 XX 月 XX 日

Lot No. : XXX-C-XXX

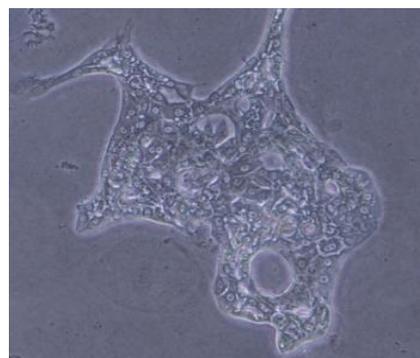


図 1. 細胞形態(参考写真・平底ウェルで培養し撮影)

V. 操作方法

※本製品は【継代不可】です。

細胞培養方法

出荷時にはウェル内を培養用メディウムで満たした状態で、**定温輸送ボックス(32°C用)**にて発送しております。

お手元に製品が届きましたら、直ちにプレートを酒精綿等で消毒した後に、クリーンベンチ内で無菌的にプレート内のアルミシールを剥がし、細胞が剥離していないかを位相差顕微鏡でご確認ください。

注意:ウェルの形状が U 底のためにピントが合う視野は狭くなります。

※定温輸送ボックスは、数日以内にご返送いただけますようお願い致します。

ウェル内に満たされているメディウムを無菌的に除去し、**37°Cに加熱した**培養用メディウムを1ウェルあたり 100 μ L ずつ加えた後、5%CO₂ 存在下 37°Cインキュベーターで培養してください。

培地の除去および添加は静かに行ってください。以降 1 日おきにメディウム交換を行ってください。



到着翌日より各試験へご使用いただけます。

※本培養キットは、1 キット毎 Primary Culture しておりますので、Lot により活性が異なる場合があります。

VI. 技術情報

実験例：小型肝細胞を用いた CYP 誘導試験

成熟化した小型肝細胞を納品時から 24 時間培養後、納品翌日を Day0 としてそれ以降 Day14 まで図 2 に示した 4 スケジュールで薬剤処理し、各アッセイによる薬剤の影響を遺伝子発現で解析をおこないました。

その結果、長期間培養でも CYP 誘導やアルブミン発現など肝細胞の機能性を維持していることが明らかとなりました。

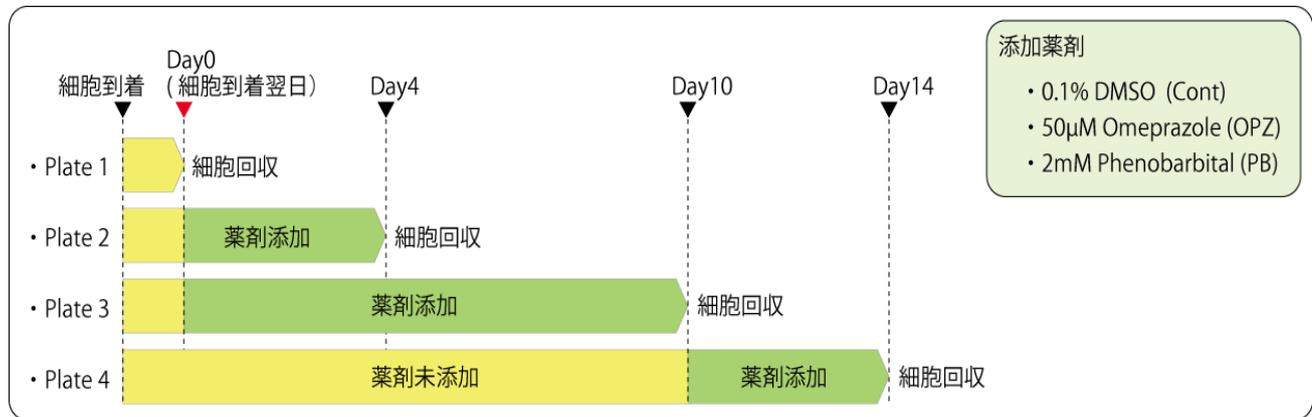


図 2. 薬剤処理のスケジュール

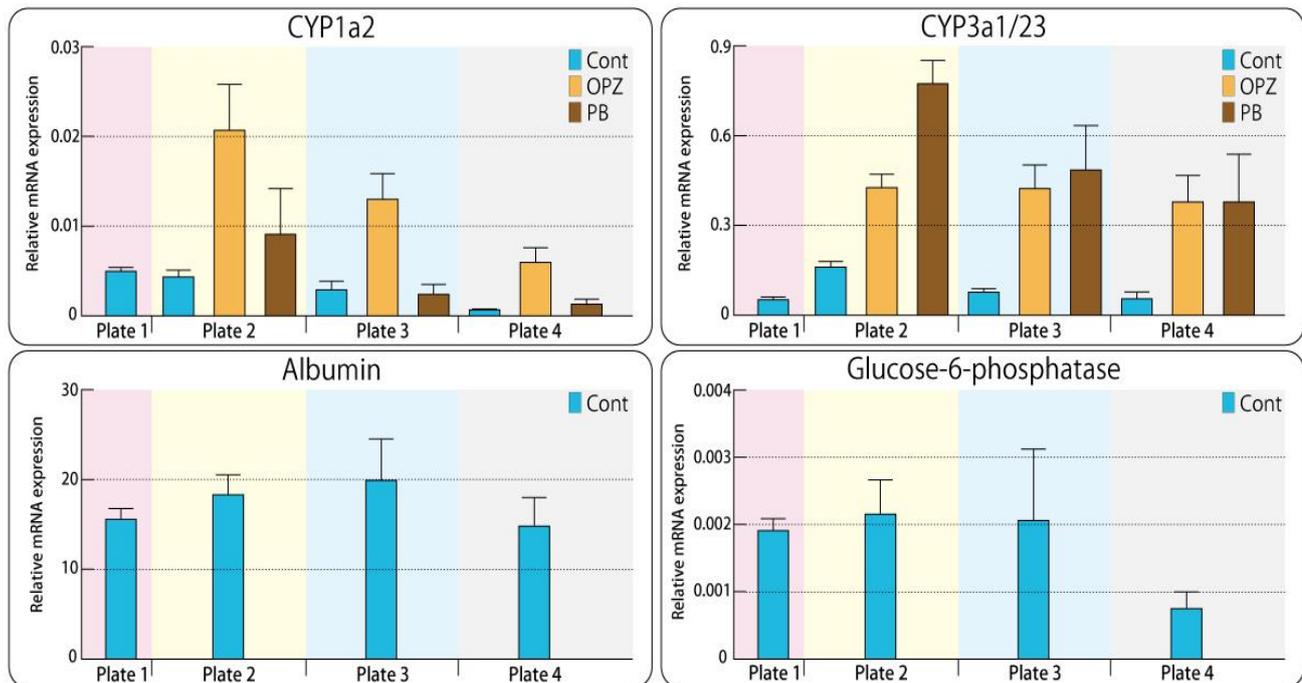


図 3. 薬剤に対する小型肝細胞の遺伝子発現の変化

VII. 参考文献

- 1) Mitaka T, Kojima T, Mizuguchi T, Mochizuki Y. Growth and maturation of small hepatocytes isolated from adult rat livers. *Biochem Biophys Res Commun*, 214, 310-317 (1995)
- 2) Mitaka T, Sato F, Mizuguchi T, Yokono T, Mochizuki Y. Reconstruction of Hepatic Organoid by Small Hepatocytes and Hepatic Nonparenchymal cells. *Hepatology*, 29(1), 111-125 (1999)
- 3) Sugimoto S, Mitaka T, Ikeda S, Harada K, Ikai I, Yamaoka Y, Mochizuki Y. Morphological changes induced by extracellular matrix are correlated with maturation of rat small hepatocytes. *J Cell Biochem*, 87(1), 16-28 (2002)
- 4) Ooe H, Kon J, Miyamoto S, Oozone Y, Ninomiya S, Mitaka T. Cytochrome P450 expressions of cultured rat small hepatocytes after long-term cryopreservation. *Drug Metab Dispos*, 34, 1667-1671 (2006)
- 5) Ooe H, Kon J, Oshima H, Mitaka T. Thyroid hormone is necessary for expression of constitutive androstane receptor in rat hepatocytes. *Drug Metabol Dispos*, 37(9), 1963-1969 (2009)