

LiverPool™ 5- 10- 20- 50- and 200-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes 使用方法

注：この説明書は、英文添付文書の簡易訳です。製品に添付されている英文マニュアルも必ずご確認ください。

対象製品:

製品コード	製品名	梱包単位	保存温度
IVT-X008052	LiverPool 5-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes, mixed gender	5 million	液体窒素
IVT-X008001	LiverPool 10-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes, mixed gender	5 million	液体窒素
IVT-FX008001	LiverPool 10-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes, female pool	5 million	液体窒素
IVT-MX008001	LiverPool 10-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes, male pool	5 million	液体窒素
IVT-X008000	Liverpool 20-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes, mixed gender	5 million	液体窒素
IVT-X008005	LiverPool 50-Donor Pooled Cryopreserved Human Hepatocytes, mixed gender	5 million	液体窒素
IVT-X008200	LiverPool 200-Donor Pooled Cryopreserved Hepatocytes, mixed gender	5 million	液体窒素

保存温度:

-150℃以下で5年間安定

製品説明:

BioIVT 社 LiverPool™ 5- 10- 20- 50- および 200-donor pooled cryopreserved human hepatocyte は、移植不可能な肝臓組織から生産されています。それぞれのドナープールは CYP1A2、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4、UGT、ST について特性評価が行われております。特性評価の情報は、BioIVT 社のウェブページ(<https://info.bioivt.com/human-hepatocytes-characterization-tables>)にてご確認ください。

LiverPool™ の viability は 70%以上であり、Phase I および Phase II 両方の酵素活性を示します。培地は BioIVT 社の InVitroGRO™ hepatocyte media をお使いください。

必要な試薬:

1. InVitroGRO™ HT Medium (IVT-Z99019)
2. InVitroGRO™ KHB (IVT-Z99074)
3. トリパンプルー溶液

細胞溶解方法

細胞の融解

1. Complete InVitroGRO™ HT Medium を 37℃に温めておく
2. 48 mL の Complete InVitroGRO™ HT Medium を 50 mL のチューブに入れる
3. バイアルを輸送コンテナもしくはフリーザーから出す
 - ▶ 液体窒素中で保存されていた場合は、慎重にキャップをはずして液体窒素をすべて除去し、キャップをしてから湯浴に入れる
4. すぐに 37℃の湯浴に入れて振盪しながら氷が少し残っている程度まで溶かす。
 - ▶ バイアルのラベルをはがすと中の状況が見やすい
5. ただちにバイアルの中の肝細胞を 37℃に温められた Complete InVitroGRO™ HT Medium に入れて懸濁する

(デカントでもピペットでも可)

- 1 mL の InVitroGRO™ HT Medium を空のバイアルに戻し、バイアルの壁面に残った細胞などを 50 mL のチューブに回収する
- チューブをゆっくりと転倒混和して懸濁する
- 細胞懸濁液を 50 x g で 5 分間遠心する (室温)
- 上清をデカントで注ぎ流す (1 回の動作で行い、何度も繰り返さない) か、またはアスピレーターで吸引除去する。
- 遠心チューブを穏やかに回してペレットをほぐす
- 2 mL の InVitroGRO™ KHB Buffer を加え、肝細胞を穏やかに再懸濁する
- トリパンブルー法を使って細胞数と生細胞数を数える

<<付録 1>> トリパンブルーを用いたセルカウントのワークシート

- セルカウント用に細胞懸濁液を希釈する
10 倍希釈の例
(700 μ L 培地もしくはバッファー) + (200 μ L トリパンブルー) + (100 μ L 細胞懸濁液)
- よく混ぜた後、室温で 1 分間インキュベートする
- 血球計算板の両脇から 10 μ L ずつ細胞懸濁液を入れる
- 顕微鏡 (対物 10 X) で生細胞と死細胞の数を数え、viability を算出する

細胞のカウント

Dilution Factor: _____ X 総生細胞数: _____

カウントしたスクエア数: _____ 総死細胞数: _____

総細胞数: _____

% Viability = 総生細胞数 / 総細胞数 x 100 = _____

細胞懸濁液の希釈

細胞濃度 (生細胞数/mL) = $\frac{\text{総生細胞数}}{\text{カウントしたスクエア数}} \times 10,000 \times \text{Dilution Factor} \text{ ______} = \text{______ cells/mL}$

細胞濃度 x _____ 総細胞懸濁液量 (mL) = _____ 総細胞数

$$\text{総再懸濁液量} = \frac{\text{総細胞数}}{\text{目的する細胞濃度 (cells/mL)}} = \text{_____ mL}$$

$$\text{加える液量} = \text{総再懸濁液量} - \text{最初の細胞懸濁液量} = \text{_____ mL}$$

注意事項:

- ヒトおよびサル由来の製品は感染の可能性があるものとして取り扱いください
- 細胞はバイオリジカルセーフティキャビネットの中など、無菌環境下で取り扱ってください
- BioIVT 社の製品は、全て研究用です。診断や臨床目的で使用しないでください

株式会社ベリタス 〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目10-14 住友東新橋ビル3号館5階

TEL 03-5776-0078 FAX 03-5776-0076

技術的なお問い合わせは：TEL 03-5776-0040 E-mail techservice@veritastk.co.jp