

ヒト・動物 肝 S9 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:

ヒト 肝 S9

コード No.	品名	梱包単位
M00962	Individual male human	30 mg
F00962	Individual female human	30 mg
MX008023	Pooled male human	30 mg
FX008023	Pooled female human	30 mg
X008023	Pooled human, mixed sexes	30 mg

Sprague-Dawley ラット 誘導肝 S9

コード No.	品名	梱包単位
M10002	Aroclor 1254-induced	30 mg
M20002	β -Naphthoflavone-induced	30 mg
M30002	Clofibrate-induced	30 mg
M40002	Dexamethasone-induced	30 mg
M50002	Isoniazid-induced	30 mg
M60002	3-Methylcholanthrene-induced	30 mg
M70002	Phenobarbital-induced	30 mg

動物 肝 S9

コード No.	品名	梱包単位
M00002	Male Sprague-Dawley rat	30 mg
F00002	Female Sprague-Dawley rat	30 mg
M00012	Male Fischer 344 rat	30 mg
F00012	Female Fischer 344 rat	30 mg

動物 肝 S9 (続き)

コード No.	品名	梱包単位
M00022	Male Wistar rat	30 mg
F00022	Female Wistar rat	30 mg
M00102	Male Dunkin-Hartley guinea pig	30 mg
F00102	Female Dunkin-Hartley guinea pig	30 mg
M00202	Male beagle dog	30 mg
F00202	Female beagle dog	30 mg
M00302	Male cynomolgus monkey	30 mg
F00302	Female cynomolgus monkey	30 mg
M00312	Male rhesus monkey	30 mg
F00312	Female rhesus monkey	30 mg
M00402	Male New Zealand white rabbit	30 mg
F00402	Female New Zealand white rabbit	30 mg
M00502	Male ICR/CD-1 mouse	30 mg
F00502	Female ICR/CD-1 mouse	30 mg
M00602	Male Yucatan minipig	30 mg
F00602	Female Yucatan minipig	30 mg
M00612	Male Gottingen minipig	30 mg
F00612	Female Gottingen minipig	30 mg

保存温度:

-70℃以下

製品説明:

肝 S9 とは、シトクロム P450 (CYP) 酵素、フラビンモノオキシゲナーゼおよび UDP グルコニルトランスフェラーゼ¹などの薬物代謝酵素が含まれる分画です¹。肝 S9 分画は、主に異物代謝研究に用いられています²⁻³。ヒト S9 のプールロットは数名分の肝臓から抽出されているため、“ヒトの平均的な”薬物代謝を評価することが可能な製品です。

必要な試薬:

- | | |
|---|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. 脱イオン水 2. 50 - 100 mM Trisバッファー 3. NaHCO₃ 4. NADP 5. グルコース-6-リン酸 | <ol style="list-style-type: none"> 6. グルコース-6-リン酸脱水素酵素 7. ウリジン5'-二リン酸-α-D-グルクロン酸 (UDPGA) 8. PAPS 9. アセトニトリル |
|---|---|

1. 準備:

肝 S9 を活性化させるには、外因性の因子が必要です。外因性因子として、NADPH-再生系(phase I、NADP 酸化) または ウリジン 5'-二リン酸- α -D-グルクロン酸 (UDPGA; phase II、グルクロン酸化)¹ から構成される因子が用いられます。インキュベーションは通常、50 - 100 mM Tris バッファーを使用します。その他のバッファーでインキュベーションする際は、条件をご検討ください。

- Phase I: NADPH-再生系用試薬の準備 (NRS; 100 mL 溶液を調製する場合)
 1. 100 mLの脱イオン水に2 g のNaHCO₃ を混ぜ、2% NaHCO₃溶液を作製する
 2. 2% NaHCO₃溶液に以下の溶液を加える
 - ◇ 1.7 mg/mL NADP (100 mLに対し170 mg)
 - ◇ 7.8 mg/mL グルコース-6-リン酸 (100 mLに対し780 mg)
 - ◇ 6 units/mL グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (100 mL に対し600 units)
- Phase II用の溶液として使用する場合には、上記「2」で調製した溶液に以下の試薬を添加する
 - ◇ 1.9 mg/mL UDPGA (100 mL の溶液に対し190 mg)
 - ◇ 100 μ g/mL PAPS (100 mL の溶液に対し10 mg)PAPSは非常に不安定な物質のため、インキュベーション直前に添加する

最良の結果を得るには、調製した試験項目の溶液はすぐに使用すること(4°Cで8時間保存可能)。試験項目の最終濃度は予め決定しておくこと。各テスト項目は脱イオン水で100Xのストック溶液として用意しておく。テスト溶液が水で溶解できない場合は、有機溶媒 (アセトニトリル) を1%以下まで添加してもよい。

2. 操作方法:

1. 16 × 100 mm のガラスチューブに、Tris バッファーで適当な濃度(5 - 20 mg/mL) に希釈した肝 S9 溶液 100 μ L をチューブに入れる(タンパクの最終濃度は 0.5 - 2.0 mg/mL になる)。事前に、最適なタンパク濃度を定めるための予備実験を行うことが望ましい。
2. テストチューブを氷上に置いた状態で、肝 S9 溶液を加える。
3. 640 μ L の Tris バッファーを加える。
4. 10 μ L の 100X 試験項目のストック溶液を加える。NRS 溶液を加える前に、各反応溶液が 750 μ L になっている事を確認する。
5. 「4」で調製した S9 が入ったテストチューブと NRS 溶液を、それぞれ 150 rpm で振盪しながら 37°C の恒温槽で 5 分間インキュベートする。
6. 「5」でインキュベートしたテストチューブに NRS 溶液を 250 μ L ずつ加える。最初の検体に NRS 溶液を添加した地点で反応時間の測定をスタートさせる。
7. 30 - 60 分インキュベートする。

参考文献:

1. Guengerich, F. P. Analysis and characterization of enzymes. In *Principles and Methods of Toxicology* (A.W. Hayes, Ed.). Raven Press, New York, **1989**, pp. 777-813.
2. Spatzenegger, M.; Jaeger, W. Clinical importance of hepatic cytochrome P450 in drug metabolism. *Drug Metab. Rev.* **1995**, *27*, 397-417.
3. Bjornsson, T. D.; Callaghan, J. T.; Einolf, H. J.; Fischer, V.; Gan L.; Grimm, S.; Kao, J.; King, S. P.; Miwa, G.; Ni, L.; Kumar, G.; McLeod, J.; Obach, S. R.; Roberts, S.; Roe, A.; Shah, A.; Snikeris, F.; Sullivan, J. T.; Tweedie, D.; Vega, J. M.; Walsh, J.; Wrighton, S. A. The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: A PhRMA perspective. *J. Clin. Pharmacol.* **2003** *43*, 443-469.

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。
- 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