



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-168-3301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

5C (人原代肝细胞功能维持组合物)

产品编号	产品名称	包装
S3200S	5C (人原代肝细胞功能维持组合物)	可配制 1L

产品简介:

- 5C (人原代肝细胞功能维持组合物), 即Combination Of Five Chemicals For Long-term Functional Maintenance Of Primary Human Hepatocytes In Vitro, 是用于体外人原代肝细胞功能长期维持的5个化合物FSK、SB43、DAPT、IWP2和LDN193189的组合。
- 肝脏是人体内重要的器官, 负责代谢、解毒、造血凝血、免疫等功能。肝细胞是占肝脏80-90%的肝实质细胞, 是肝脏功能的主要承担者。原代肝细胞分离和体外培养为模拟肝脏疾病和分子机制研究提供了重要方法和材料。但是新鲜分离得到的原代肝细胞体外培养只能维持10-14天, 在这过程中肝细胞功能会快速丧失, 随后变成纤维样间质细胞, 最后发生细胞凋亡。这对于体外培养细胞并模拟体内疾病及研究分子机制带来困难。因此, 如何保持肝细胞在体外长期培养过程中性状稳定并与体内功能一致, 是肝脏研究领域长期未解决的问题和难题。
- 5C是根据2019年4月北京大学邓宏魁教授研究组等在*Science*期刊发表的“Long-term functional maintenance of primary human hepatocytes in vitro”(Xiang C, *et al. Science*. 2019 Apr 26;364(6438):399-402.)研发而成, 该论文找到了五种关键的小分子抑制剂: FSK、SB43、DAPT、IWP2和LDN193189, 并被科研人员称作5C。该研究首先从比较新鲜分离的人原代肝细胞与培养24小时后的肝细胞转录表达谱入手, 发现体外培养24小时后肝细胞基因表达即发生变化, 有15个主要的肝功能相关基因被下调达10倍。同时TGF信号通路被上调, 提示原代肝细胞体外培养24小时即触发启动上皮-间质转化程序, 推动细胞命运改变, 正常肝细胞功能走向丧失。随后通过加入TGF小分子抑制剂SB431542可以保持一定的上皮细胞性状但是仍不能阻止肝功能相关基因表达被下调, 提示仍存在其他负向调控肝细胞稳定的信号。研究组继续通过小分子药物筛选, 最终发现在体外培养液中加入5种化合物组合: FSK、SB43、DAPT、IWP2和LDN193189, 可以很好地延长培养时间至四周, 并在此期间有效保持肝细胞极性性状和肝功能相关基因的稳定表达。这5种化合物分别为cAMP激动剂、TGF-抑制剂、Notch抑制剂、Wnt抑制剂和BMP抑制剂, 这些信号通路主要涉及到肝细胞分化、增殖等过程, 而抑制剂的加入可能模拟了体内微环境中所释放信号的综合效应, 从而达到维持肝细胞稳态的作用。
- 5C处理使得人原代肝细胞在长期体外培养条件下保持了原有的正常形态和生物学功能, 并且通过检测mRNA水平, 发现5C处理后保持了肝细胞原有的基因表达模式。因为肝脏是重要的解毒以及代谢器官, 研究者们还检测了用5C处理的肝原代细胞中CYP (Cytochrome P450)基因的表达及其酶活性, 发现相较于新鲜分离培养的原代肝细胞均没有明显差别。而且, 在长达一个月以上的培养过程中, 5C组合抑制了肝细胞的去分化, 细胞整体基因表达谱与体内的肝细胞高度相似, 并长期维持了白蛋白分泌、尿素合成、药物代谢等肝细胞的功能。基于5C培养条件, 科研人员成功建立了乙型肝炎病毒感染模型: 持续高水平表达乙肝表面抗原、e抗原、合成乙肝病毒DNA等感染指标, 尤其是能够长期稳定产生乙肝病毒复制必需的cccDNA。
- 这种仅用5种小分子化合物组合应用可以有效延长原代肝细胞体外培养时间并保持其生物学功能稳定, 在时间上和功能上均保证了其作为体外模拟病毒感染模型的可行性。这对于探索病毒感染机制具有重要意义, 也将为大规模抗病毒药物筛选提供新方法。未来体外延长培养的肝细胞是否可应用于其他肝脏疾病体外模拟、干预和基因操作等研究值得一步探索。

表1. 5C中5个化合物的主要信息。

产品编号	化合物名称	CAS号	分子量	靶点	包装浓度	使用浓度
S3200-1	Forskolin (FSK)	66575-29-9	410.50	adenylate cyclase activator	20mM (1000×)	20μM
S3200-2	SB431542 (SB43)	301836-41-9	384.39	TGF-β inhibitor	10mM (1000×)	10μM
S3200-3	DAPT	208255-80-5	432.46	Notch inhibitor	10mM (10,000×)	1μM
S3200-4	IWP-2	686770-61-6	466.60	Wnt inhibitor	5mM (10,000×)	0.5μM
S3200-5	LDN193189 (LDN)	1062368-24-4	406.48	BMP inhibitor	1mM (10,000×)	0.1μM

- 按照*Science* 2019 Apr 26;364(6438):399-402该论文中的使用浓度, 本产品可配制1L培养液。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
S3200S-1	Forskolin (腺苷酸环化酶激活剂)	20mM×1ml
S3200S-2	SB431542 (TGF-β/Smad 抑制剂)	10mM×1ml
S3200S-3	DAPT (Notch 抑制剂)	10mM×0.1ml

S3200S-4	IWP-2 (Wnt 抑制剂)	5mM×0.1ml
S3200S-5	LDN193189 (BMP 抑制剂)	1mM×0.1ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 至少一年有效。

注意事项:

- 本产品所有化合物的溶剂均为高纯度DMSO。
- 本产品可能对人体有一定的毒害作用, 请注意适当防护, 以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 收到产品后请立即按照说明书推荐的条件保存。使用前可以在2,000-10,000g离心数秒, 以使液体充分沉降至管底后再开盖使用。
2. 具体的最佳工作浓度请参考本说明书或其它相关文献, 或者根据实验目的, 以及所培养的特定原代细胞, 通过实验进行摸索和优化。

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
S3200S	5C(人原代肝细胞功能维持组合物)	可配制 1L
S1612-1mg	Forskolin (腺苷酸环化酶激活剂)	5mg/ml×0.2ml
S1612-5mg	Forskolin (腺苷酸环化酶激活剂)	5mg
S1612-25mg	Forskolin (腺苷酸环化酶激活剂)	25mg
SF4139-10mM	DAPT (γ -secretase抑制剂)	10mM×0.2ml
SF4139-5mg	DAPT (γ -secretase抑制剂)	5mg
SF4139-25mg	DAPT (γ -secretase抑制剂)	25mg
SF7890-10mM	SB431542 (TGF- β /Smad抑制剂)	10mM×0.2ml
SF7890-5mg	SB431542 (TGF- β /Smad抑制剂)	5mg
SF7890-25mg	SB431542 (TGF- β /Smad抑制剂)	25mg
SF7912-1mM	LDN193189 (BMP/TGF- β /Smad抑制剂)	1mM×2ml
SF7912-5mg	LDN193189 (BMP/TGF- β /Smad抑制剂)	5mg
SF7912-25mg	LDN193189 (BMP/TGF- β /Smad抑制剂)	25mg
SF6831-10mM	IWP-2 (Wnt/ β -catenin抑制剂)	10mM×0.2ml
SF6831-5mg	IWP-2 (Wnt/ β -catenin抑制剂)	5mg
SF6831-25mg	IWP-2 (Wnt/ β -catenin抑制剂)	25mg

Version 2019.04.29