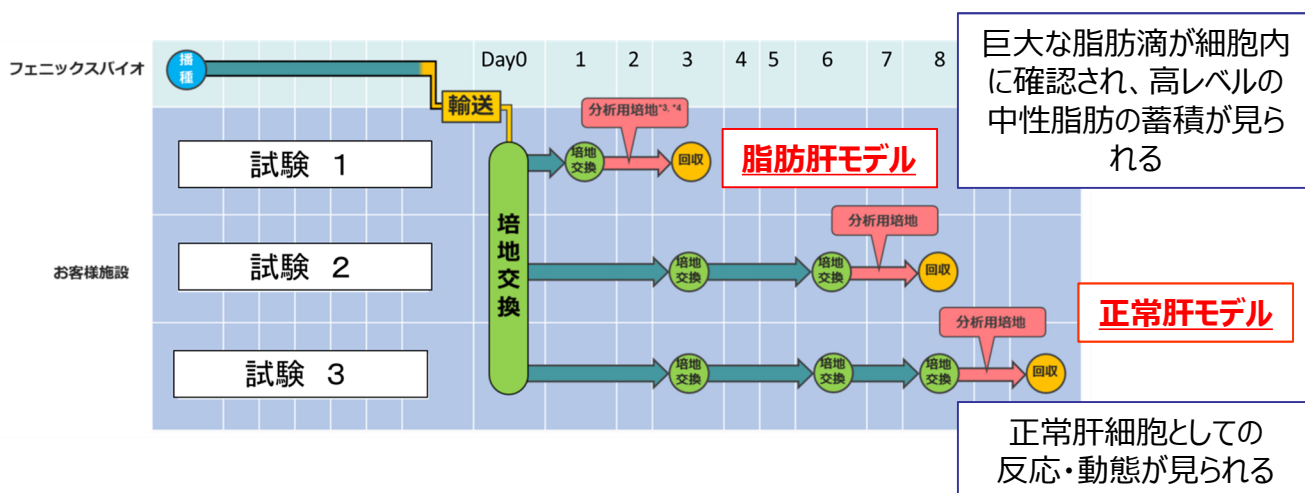


LipoCultureによる培養経過、薬剤添加におけるCholesterol/TGの変化

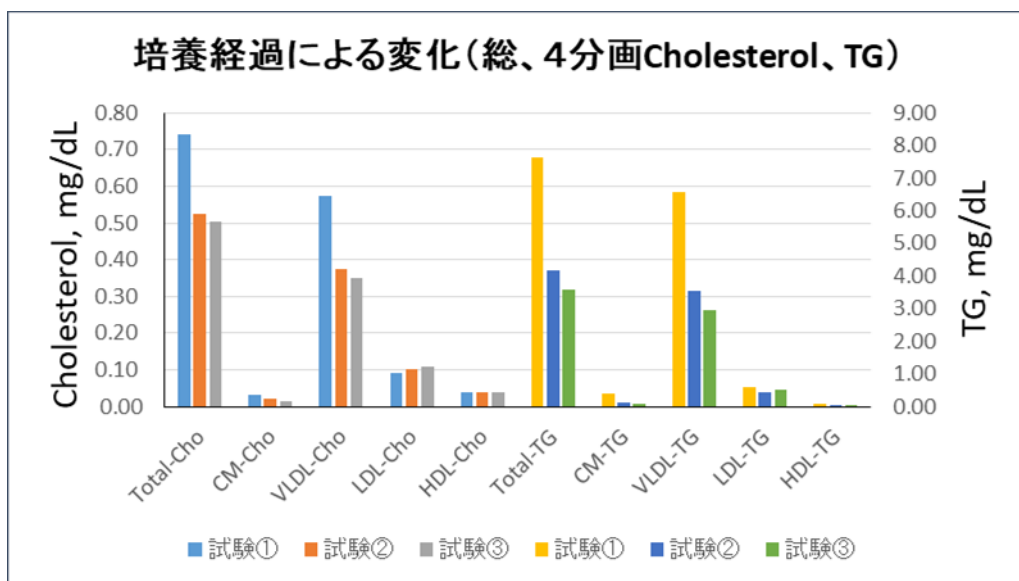
- 試験 1 : 培養 1 日後、試験用培地に交換 + 薬剤添加 → 2 日間培養 → 上清採取 → **脂肪肝モデル**
 試験 2 : 培養 3 日後、試験用培地に交換 + 薬剤添加 → 2 日間培養 → 上清採取 → **正常肝モデル**
 試験 3 : 培養 8 日後、試験用培地に交換 + 薬剤添加 → 2 日間培養 → 上清採取 → **正常肝モデル**



培養用培地 : PXB-cells培養用培地 (型式番号 : PPC-M100)

分析用培地 : William's E Medium no Phenol Red (A1217601 : Thermo Fisher Scientific)
 with CM4000 : Thermo Fisher Scientific)

添加剤 : ロミタピド 0, 1uM, 10uM 100uM / DMSO含有バッファー
 ラクトフェリン 0, 10ug/mL, 100ug/mL, 1000ug/mL / PBS



○薬剤未添加のコントロール群におけるCho/TGの産生量を調べた。
 培養が進むにつれて産生量が低下した。

PXB-cells LAを用いた実験例-1

LipoCULTUREによる測定

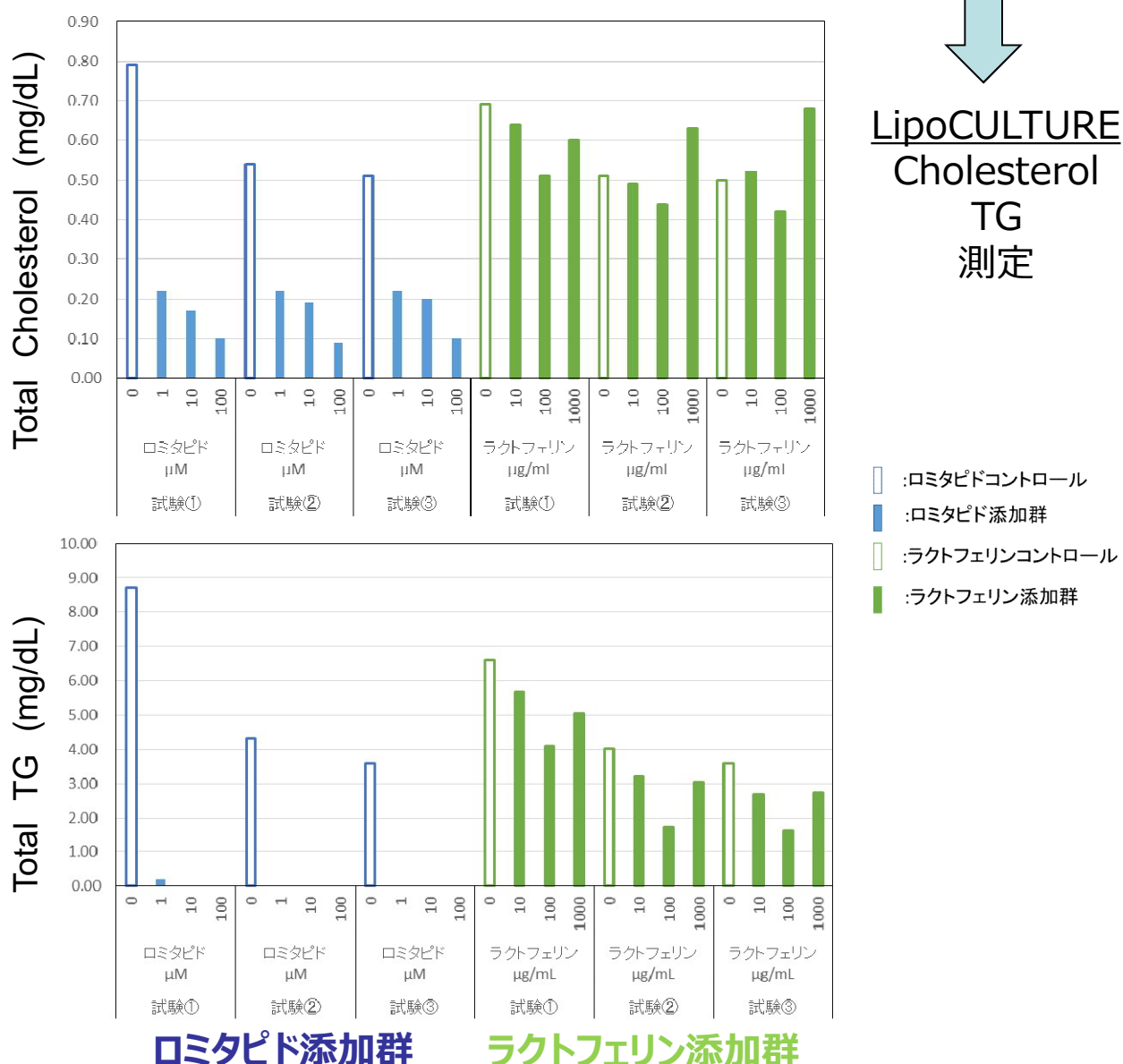
- For Research Use -

薬剤添加によるCholesterol/TGの変化

試験 1 : 培養 1 日後、試験用培地に交換 + 薬剤添加 → 2 日間培養 → 上清採取

試験 2 : 培養 3 日後、試験用培地に交換 + 薬剤添加 → 2 日間培養 → 上清採取

試験 3 : 培養 8 日後、試験用培地に交換 + 薬剤添加 → 2 日間培養 → 上清採取



○試験①から③と培養が進むにつれてCho, TG共に産生が低下した。

○ロミタピド添加によりCho、TG共に産生が低下した。

○ラクトフェリン添加によりTGの産生が低下した。

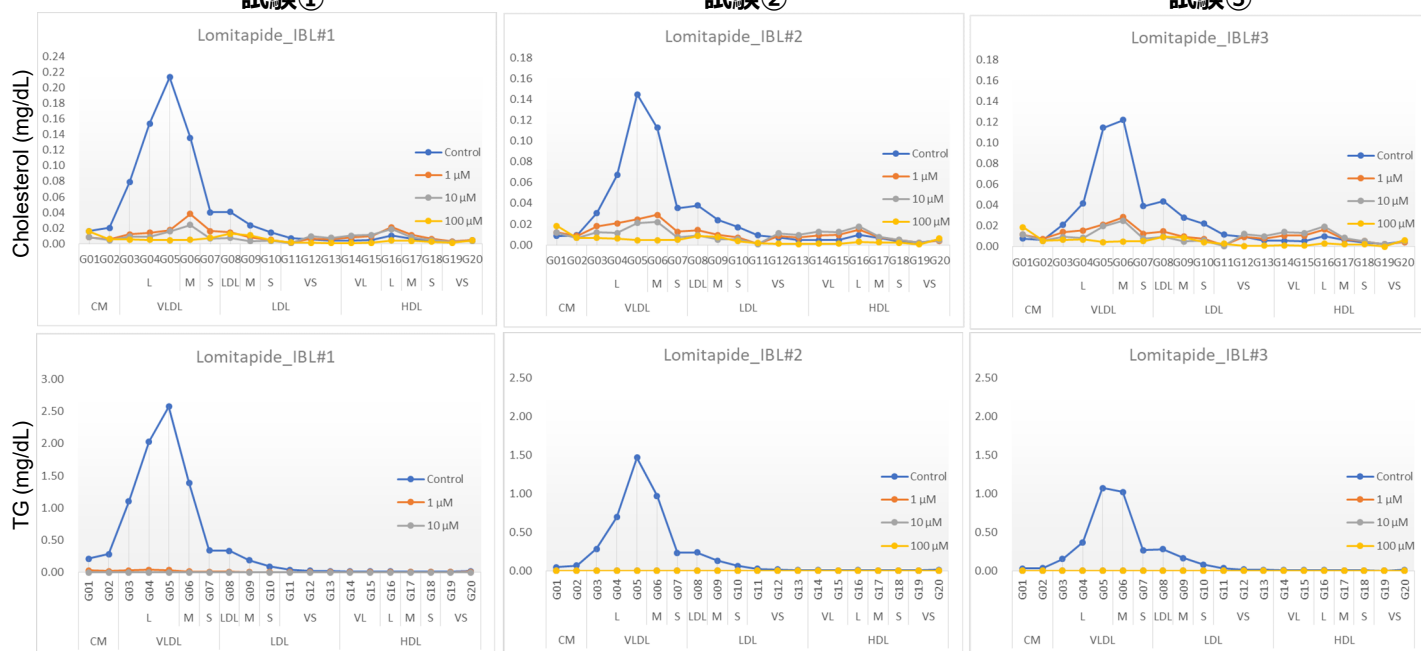
LipoCultureによる培養経過、薬剤添加におけるCholesterol／TGの変化 － 20分画リポプロテイン詳細分画における影響－

ロミタピド添加による影響

試験①

試験②

試験③

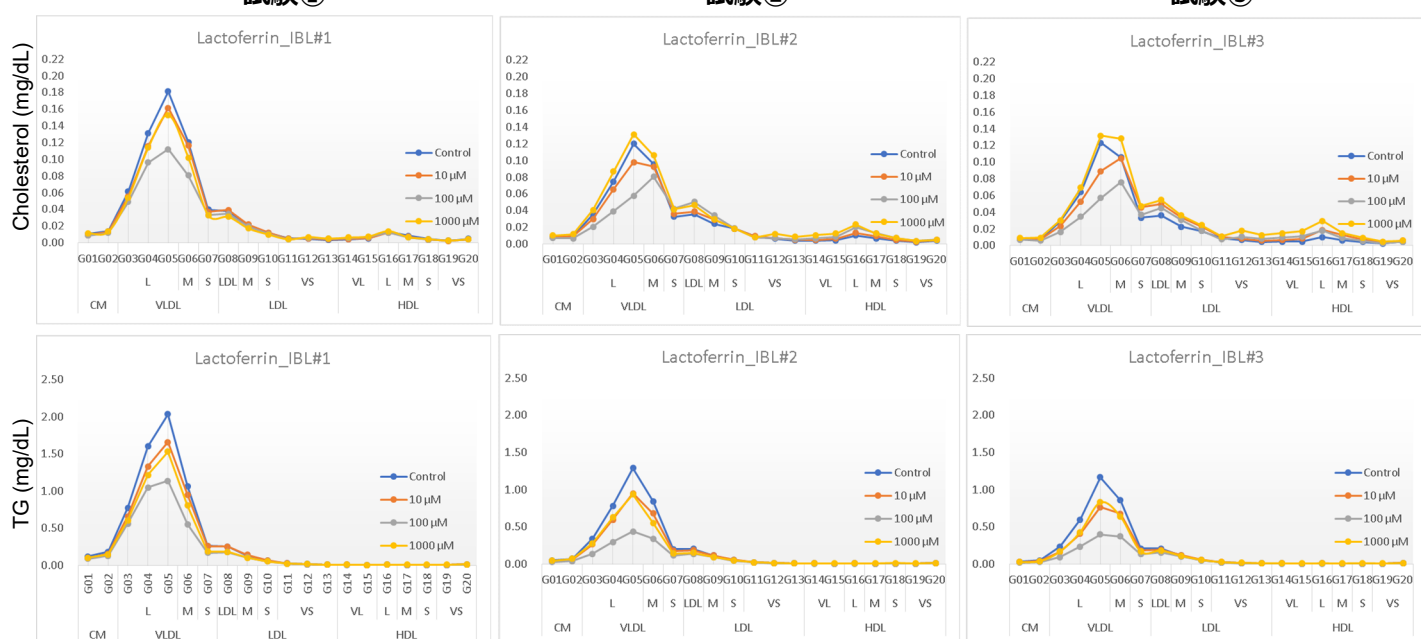


ラクトフェリン添加による影響

試験①

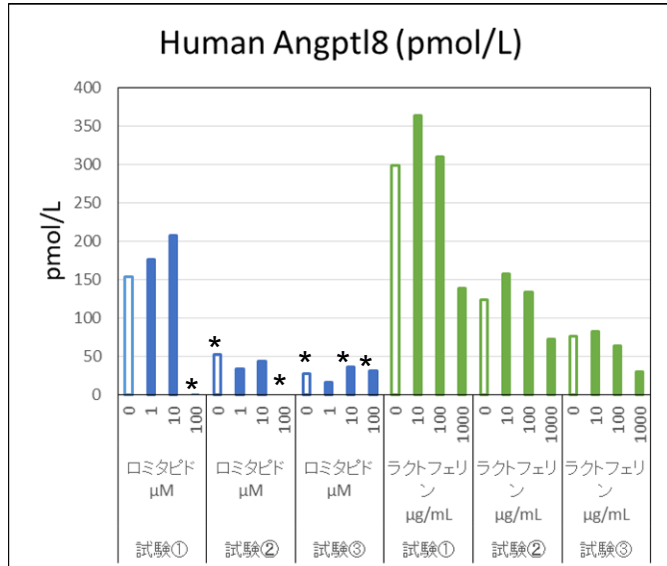
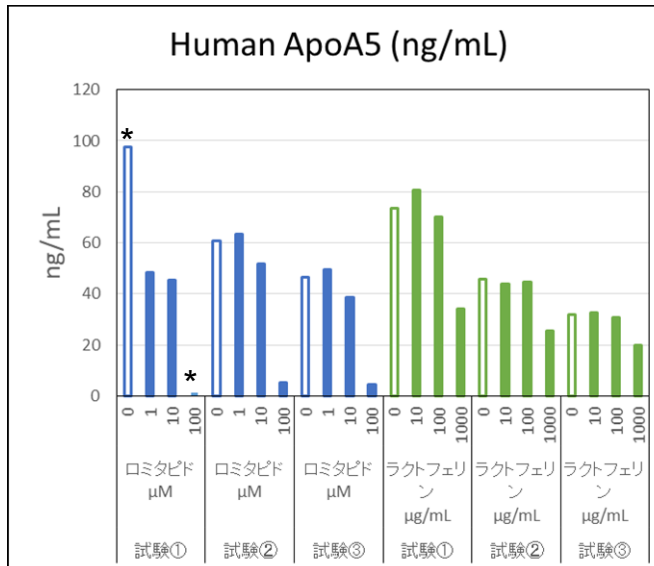
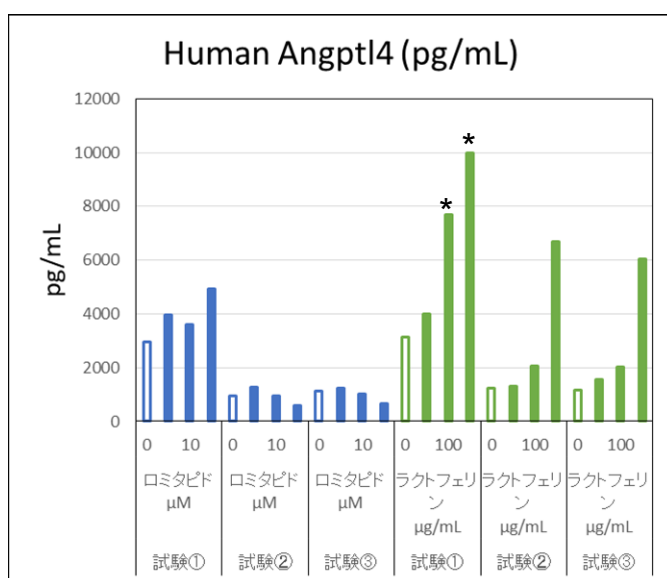
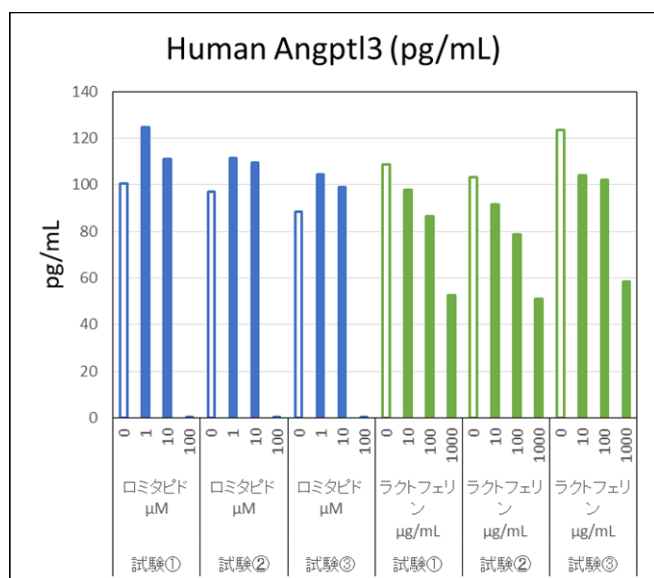
試験②

試験③



○主にVLDLにおいてCho,TG共に産生が低下した。

培養経過、薬剤添加における培養上清中各種因子量の変化

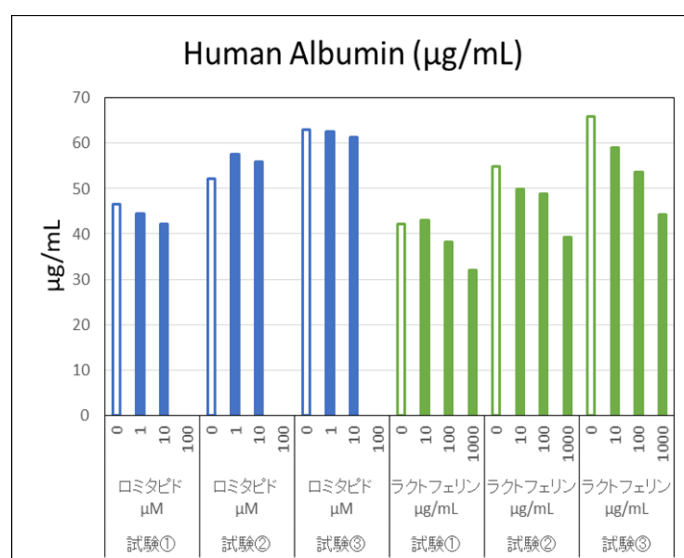
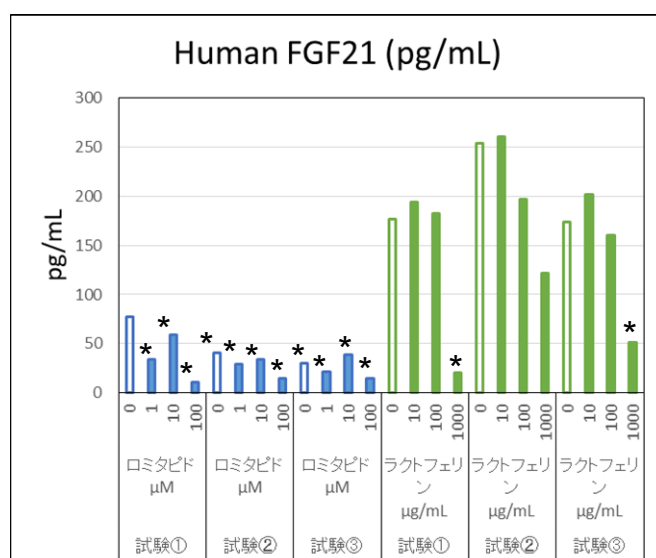
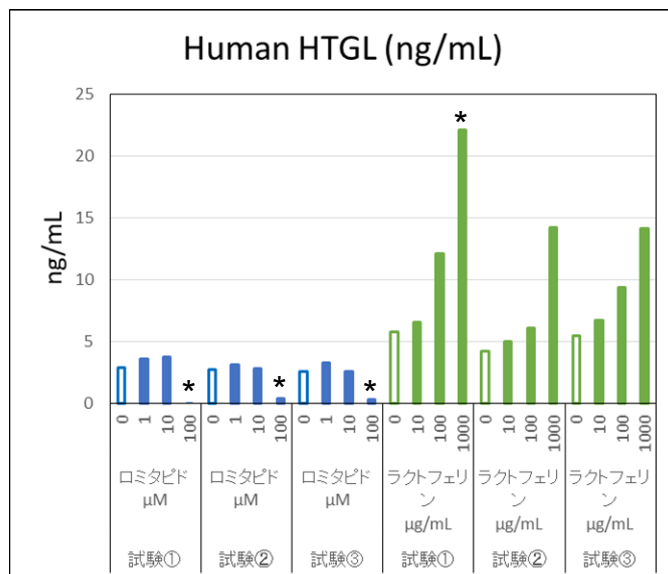
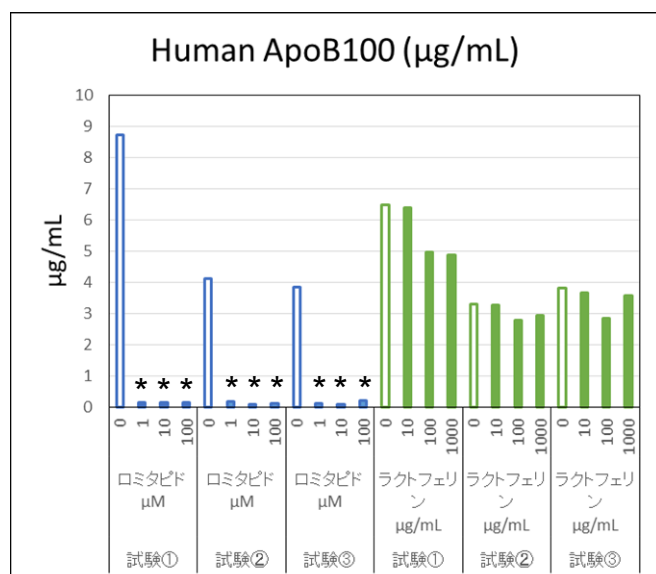


○Angptl3以外は、培養が進むにつれて産生量が低下した。
 ○ロミタピド添加によりApoA5は産生が低下した。
 ○ラクトフェリン添加によりAngptl3、Angptl8、ApoA5は産生が低下し、Angptl4は増加した。

- :ロミタピドコントロール
- :ロミタピド添加群
- :ラクトフェリンコントロール
- :ラクトフェリン添加群

* : 参考値

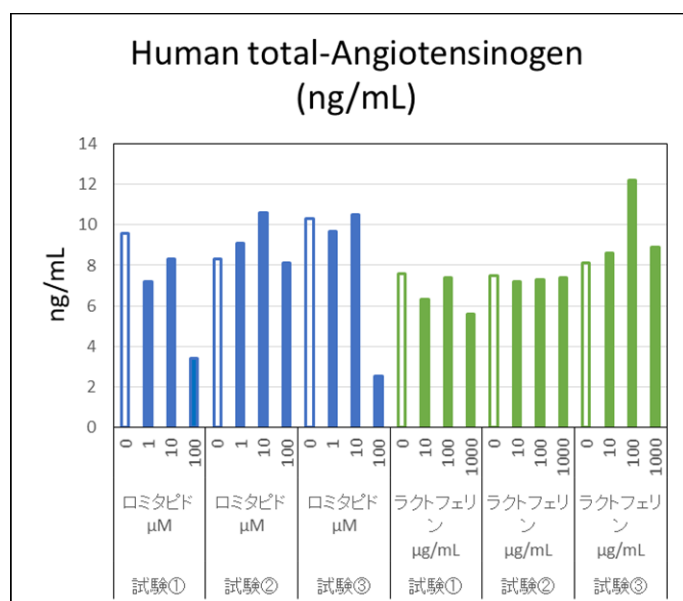
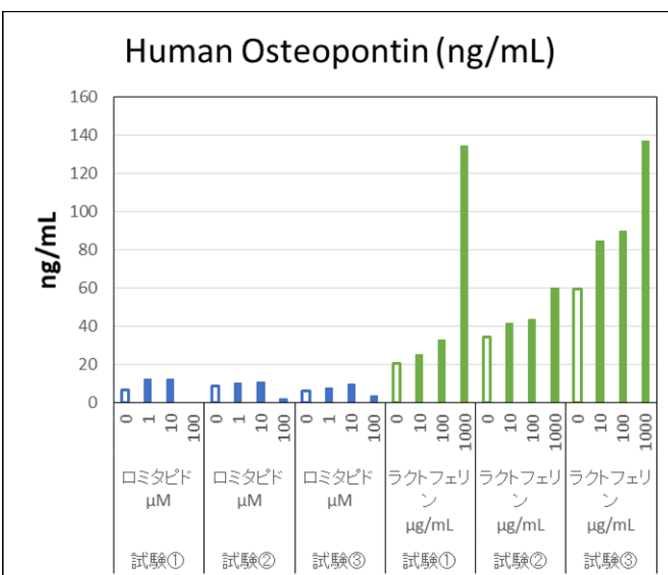
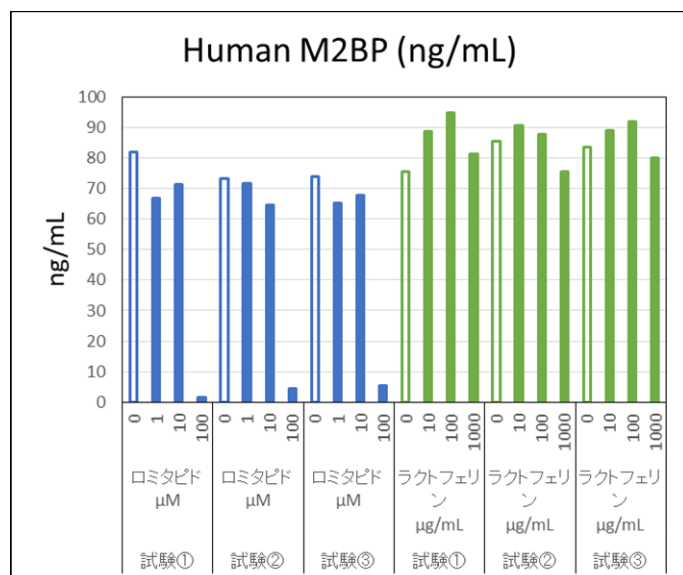
培養経過、薬剤添加における培養上清中各種因子量の変化



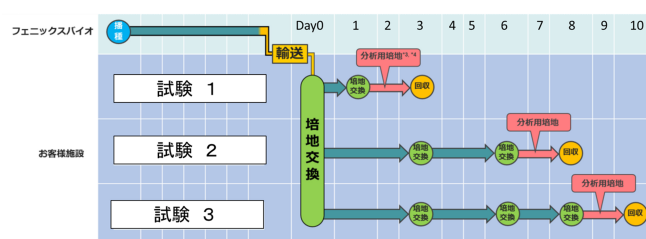
○ApoB100は、培養が進むにつれて産生量が低下し、Albuminは増加した。

○ラクトフェリン添加によりApoB100、FGF21、Albuminは産生が低下し、HTGLは増加した。

- :ロミタピドコントロール
- :ロミタピド添加群
- :ラクトフェリンコントロール
- :ラクトフェリン添加群
- * :参考値



試験プロトコール



添加劑：

ロミタピド, 0, 1uM, 10uM, 100uM

ラクトフェリン, 0, 10, 100, 1000ug/mL

使用試薬

- :ロミタピドコントロール
- :ロミタピド添加群
- :ラクトフェリンコントロール
- :ラクトフェリン添加群

No.27362 Human Mac-2 binding protein
(Mac-2bp) Assay Kit – IBL

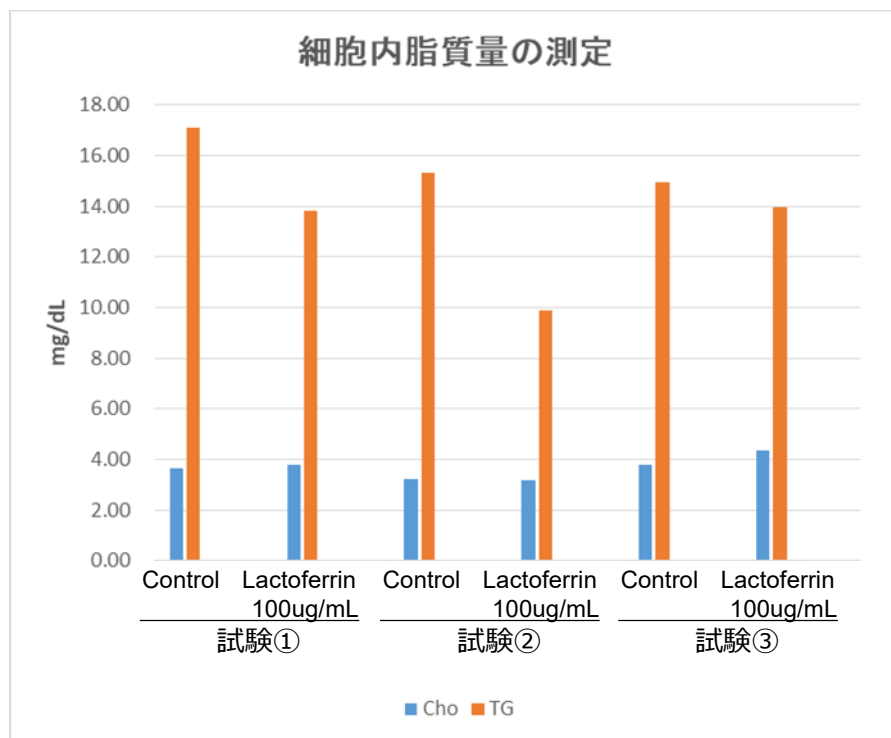
No.27158 Human Osteopontin Assay Kit - IBL

No.27412 Human Total Angiotensinogen Assay Kit - IBL

PXB-cells LAを用いた実験例-5

細胞内脂質量の測定

- For Research Use-

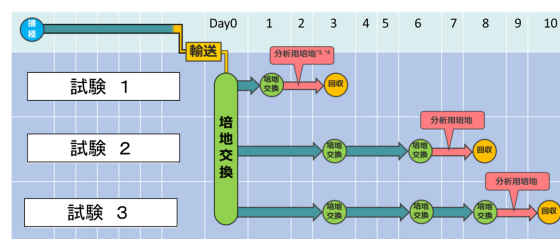


培養
↓ ← 薬剤を添加
↓
培養
↓
細胞回収
↓
コレステロール、
中性脂肪を測定

測定方法

- 細胞上清を除く
- TG/TC試薬①、200 μ Lを1well/24wellに添加
- 37°C、10分間静置
- マイクロピペットで細胞を剥離
- 剥離後の細胞懸濁液を回収
- 室温、10,000 g、10分間遠心分離
- 上清を回収
- 直ぐに測定しない場合は-80°C以下で保存
- 96マルチウェルプレートに上記サンプル、希釈済み標準物質などを各15 μ L添加
- TG/TC試薬①を68 μ Lずつ添加
- プレートミキサーで攪拌
- 37°C、10分間静置
- 反応後のウェルに、TG試薬②を25 μ L添加
- プレートミキサーで攪拌
- 37°C、10分間静置
- 550 nmおよび800 nmの吸光度を測定する。

試験プロトコル



添加剤：ラクトフェリン, 0, 100ug/mL

使用試薬

- コレステスト® TG/TC 試薬①
- コレステスト® TG/TC 試薬②
- コレステスト® Nキャリアレーター
(積水メディカル株式会社)