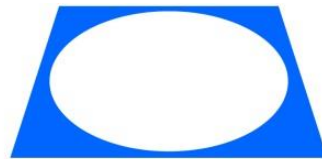


細胞培養系における 脂質代謝解析サービス 「Lipo Culture」 のご案内

～動物試験代替法によるスクリーニングのご提案～



Skylight Biotech

株式会社スカイライト・バイオテック

■ Lipo Cultureとは？

細胞培養系の試験により、脂質代謝への影響を詳細に解析し、
研究対象素材のスクリーニング・機能性評価を支援するサービスです。

■ 活用シーン

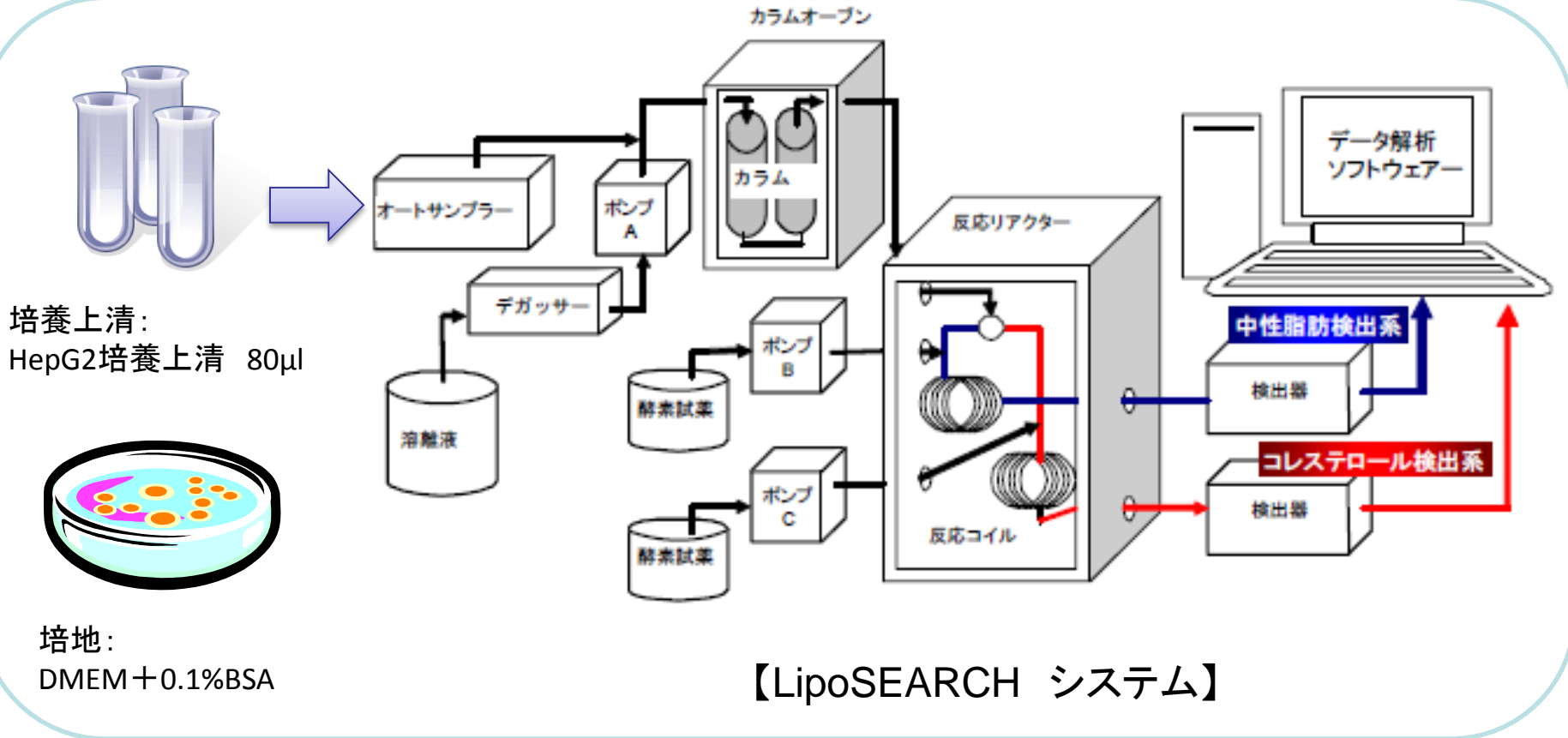
- ・スクリーニング：脂質代謝改善作用を有する機能性食品素材の絞り込み
- ・候補素材の機能性検証：既に絞り込まれた候補素材の機能検証
- ・製品化素材の新たなエビデンスデータの取得

■ お客様のメリット

細胞代替法を活用し、動物試験のプロセスを削減した研究を推進することによる、
コストの削減、素材評価のスピードアップ 等

解析方法

HepG2細胞を培養し、上清に分泌されるリポタンパク質をゲル濾過HPLCにより粒子サイズに従って分離し、オンラインの酵素反応をさせることにより、脂質(コレステロール及び中性脂肪)濃度を定量します。

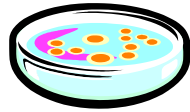
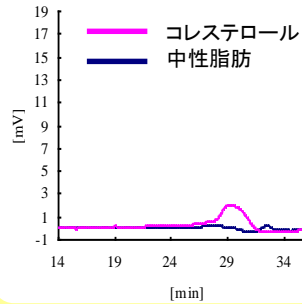


■ 提供データ

・培養上清中に分泌されるリポタンパク質の主要4分画(CM、VLDL、LDL、HDL)および粒子サイズにて分類定義した詳細20分画における、コレステロールと中性脂肪値をご提供致します。

データ事例1. 培養細胞のリポタンパク代謝

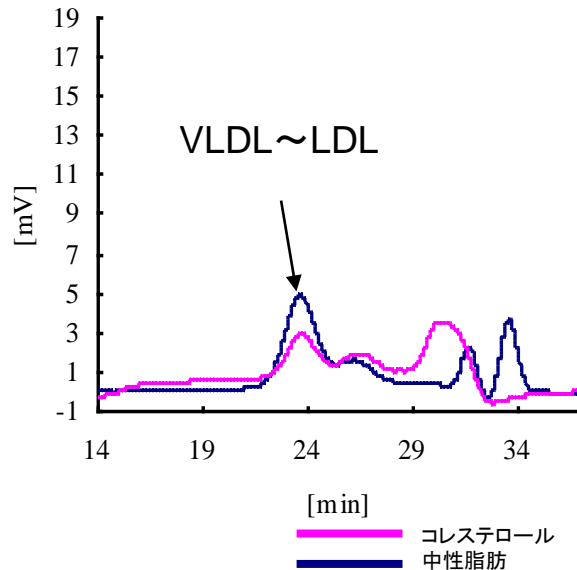
培養前



培養細胞: HepG2細胞

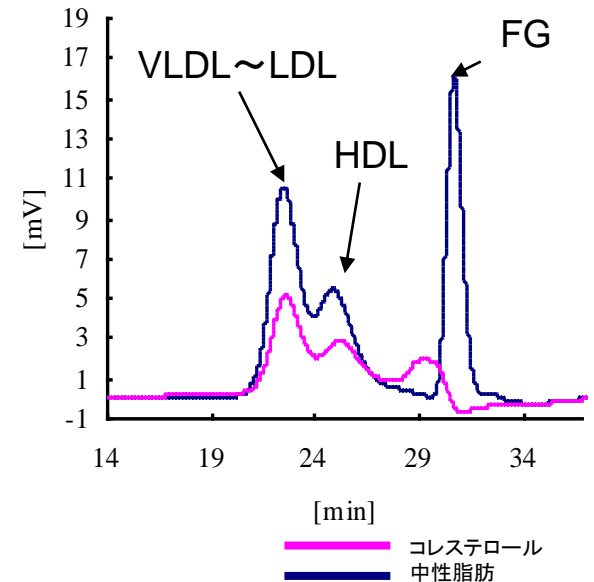
培地: DMEM(phenol red free)+0.1% (W/V) BSA

培養1日後



VLDLとLDLの中間サイズのリポタンパクが出現

培養4日後



HDLも出現し、FGが確認された

データ事例2. 薬剤投与による培養細胞のリポタンパク代謝変化



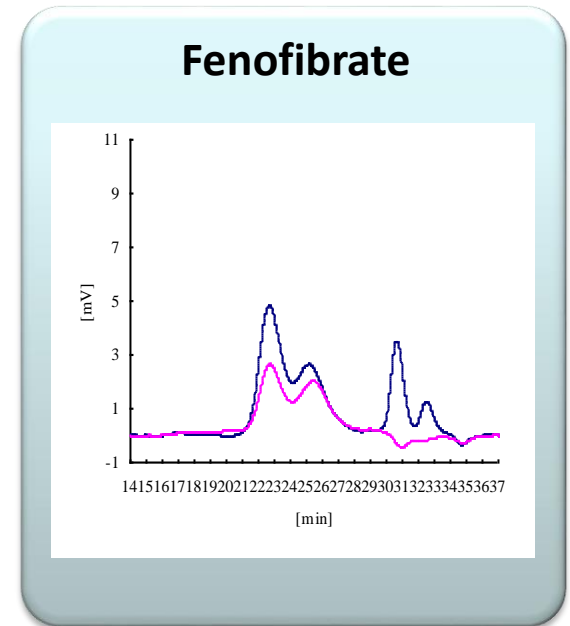
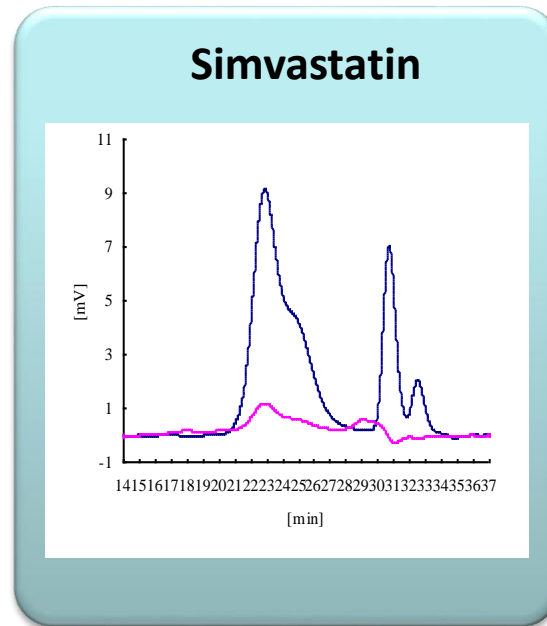
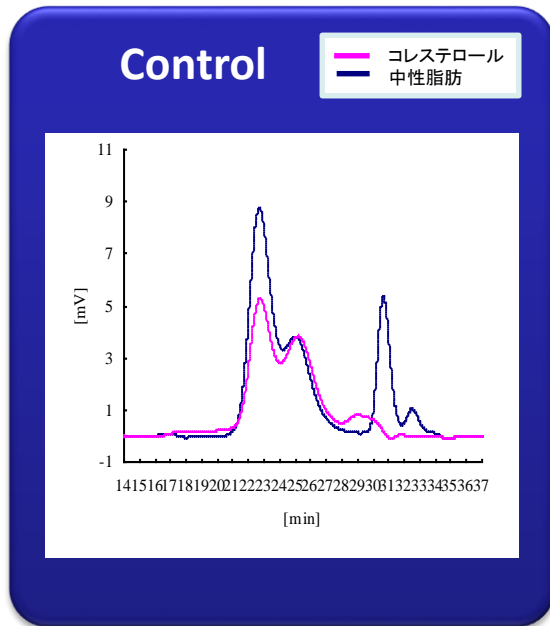
培養細胞: HepG2細胞

培地: DMEM(phenol red free)+0.1% (W/V) BSA

Control : 培地+0.1%Ethanol

Statin : 培地+5 μ M Simvastatin

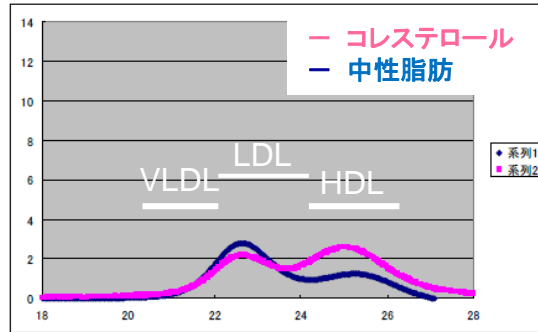
Fibrat : 培地+200 μ M Fenofibrate



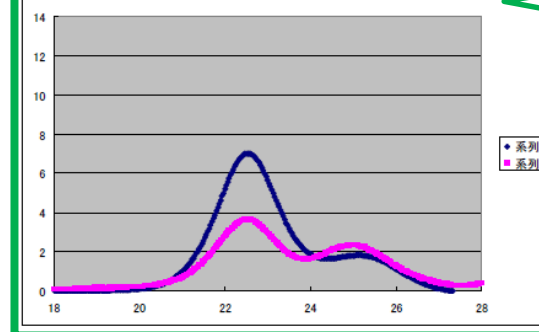
スタチン系薬剤ではコレステロールの低下、フィブレート系薬剤では中性脂肪の低下を検出し、脂質異常症改善効果の評価できた。

データ事例3. 脂質代謝改善機能素材のスクリーニング活用例

Control



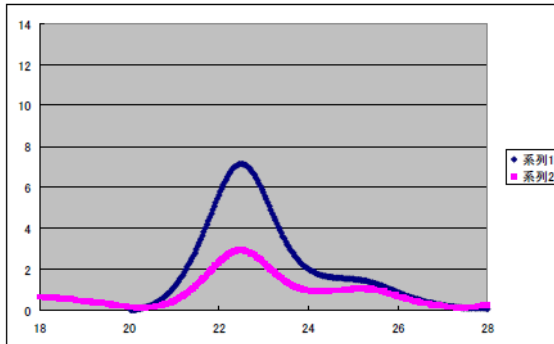
オレイン酸



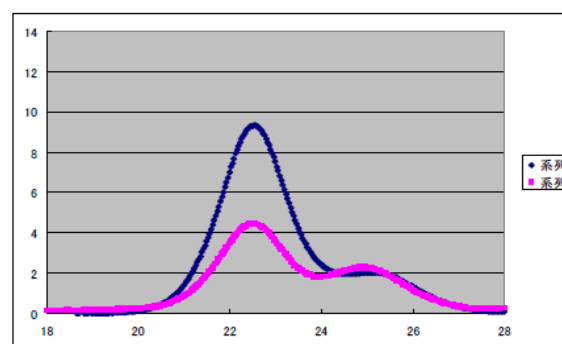
オレイン酸添加で脂質代謝が亢進される

ジュンサイ添加群で脂質代謝の抑制が見られた

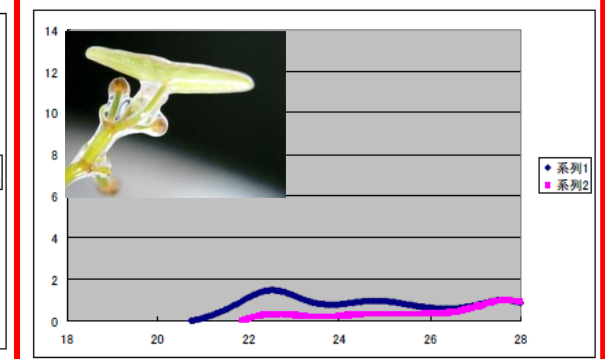
ミョウガ



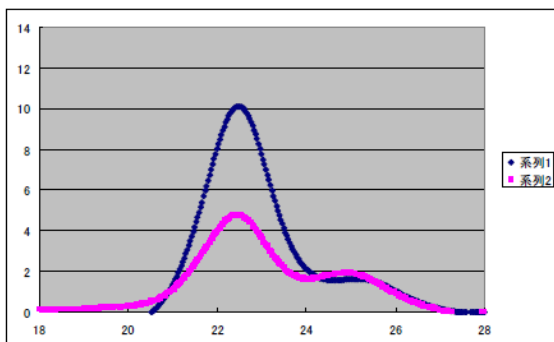
ネギ



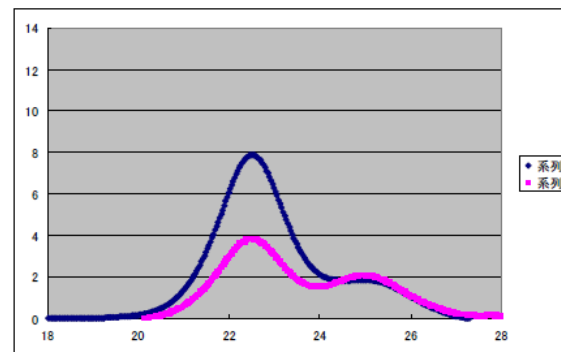
ジュンサイ



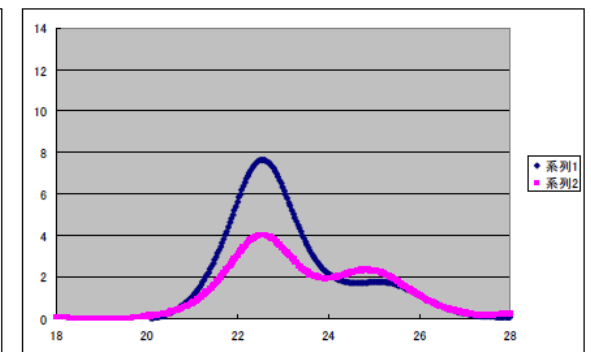
トンブリ



オクラ



ウド



データ事例3. 脂質代謝改善機能素材のスクリーニング活用例

Scientific name (Japanese name)	Na oleate	Cholesterol (μ g/ 10^6 cells)				Triglyceride (μ g/ 10^6 cells)			
		Total	VLDL	LDL	HDL	Total	VLDL	LDL	HDL
Control	-	3.6 \pm 0.6	0.5 \pm 0.1	1.0 \pm 0.1	2.1 \pm 0.4 **	7.3 \pm 0.7 **	0.8 \pm 0.2 **	3.8 \pm 0.2 **	2.7 \pm 0.4
Na oleate alone	+	3.1 \pm 0.2	0.5 \pm 0.0	1.2 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1	12.6 \pm 0.8	2.0 \pm 0.1	7.2 \pm 0.4	3.4 \pm 0.4
Fenofibrate (500 μ M)	+	0.7 \pm 0.3 **	0.1 \pm 0.2 **	0.4 \pm 0.2 **	0.2 \pm 0.2 **	3.3 \pm 0.8 **	0.2 \pm 0.1 **	1.9 \pm 0.5 **	1.2 \pm 0.1 **
<i>Abelmoschus esculentus</i> (Okura)	+	3.1 \pm 0.4	0.5 \pm 0.2	1.2 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1	12.1 \pm 0.7	2.4 \pm 0.2	6.9 \pm 0.1	2.8 \pm 0.5
<i>Allium fistulosum</i> (Negi)	+	3.2 \pm 0.5	0.6 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1	1.3 \pm 0.2	15.1 \pm 0.4 *	3.2 \pm 0.2 **	8.3 \pm 0.1 **	3.6 \pm 0.1
<i>Aralia cordata</i> (Udo)	+	3.2 \pm 0.4	0.7 \pm 0.3	1.3 \pm 0.1	1.2 \pm 0.1	14.4 \pm 0.9	2.9 \pm 0.5 **	8.2 \pm 0.1	3.3 \pm 0.2
<i>Brasenia schreberi</i> (Jyunsai)	+	0.3\pm0.3 **	0 **	0.2\pm0.2 **	0.1\pm0.2 **	1.9\pm0.5 **	0.2\pm0.1 **	0.9\pm0.1 **	0.8\pm0.3 **
<i>Matteuccia struthiopteris</i> (Kusasotetsu)	+	1.7 \pm 0.3 *	0 **	0.7 \pm 0.2 **	0.7 \pm 0.1 **	11.3 \pm 0.6	2.5 \pm 0.2	6.4 \pm 0.3 *	2.3 \pm 0.1 **
<i>Kochia scoparia</i> (Houkigi)	+	3.5 \pm 0.2	0.7 \pm 0.2	1.4 \pm 0.3	1.4 \pm 0.1	15.8 \pm 1.7 **	1.9 \pm 0.1	10.8 \pm 1.3 **	3.1 \pm 0.4
<i>Zingiber mioga</i> (Myoga)	+	2.7 \pm 0.6	0.5 \pm 0.2	1.0 \pm 0.2	1.1 \pm 0.1	12.1 \pm 0.5	1.8 \pm 0.1	7.1 \pm 0.2	3.2 \pm 0.1



スクリーニングの結果から、ジュンサイの脂質代謝改善作用に注目した。

データ事例4. 動物試験代替法としての有効性評価

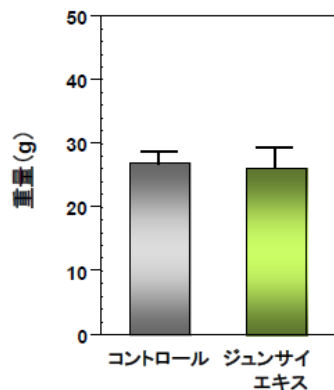
【方法】 C57/BL6マウスに、High Fat Diet+ジュンサイ EtOH抽出エキス (BSET) 1% を混餌し、2週間投与。

【結果】

Tissue weight	Control group	BSET group
Body weight (g)	26.8± 0.5	25.6± 1.5
Liver weight (mg)	1005.7±42.6	982.5±74.1
Kidney weight (mg)	165.5±31.3	153.5±15.7
Spleen weight (mg)	80.0±21.4	68.0± 9.6
Mesenteric adipose tissue (mg)	232.0±48.3	167.7±23.0 *
Epididymal asipose tissue (mg)	306.8±57.6	226.7±63.1 *

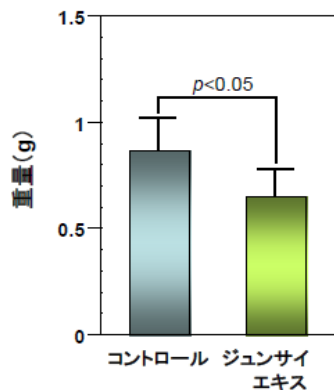
Serum	Control group	BSET group
Triglyceride (mg/dl)	62.9±10.7	18.5± 5.4 * *
Cholesterol (mg/dl)	120.8±22.8	118.6±12.2
Glucose (mg/dl)	231.7±20.3	191.0±22.2 *
AST (U/L)	68.3± 4.3	58.5±11.4
ALT (U/L)	30.8± 9.3	26.8±10.4

体重

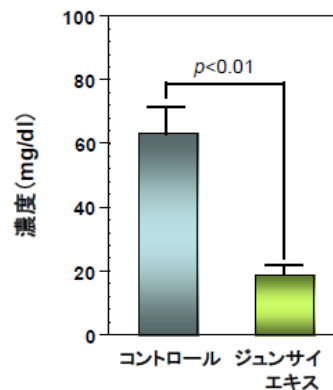


内臓脂肪

(体重100gあたり)



血中中性脂肪値



Values are the mean ± SD (n=6),
*p<0.05 and **p<0.01 vs. control group.

ジュンサイ添加群において、
中性脂肪値低下と内臓脂肪蓄積抑制の有意な効果が確認された。

1.「HPLC analysis of lipoproteins in culture medium of hepatoma cells: an in vitro system for screening antihyperlipidemic drugs」

Biotechnol Lett (2009) 31:953–957

2.「Lupeol reduces triglyceride and cholesterol synthesis in human hepatoma cells」

Phytochemistry Letters 2 (2009) 176–178

3.「In vitro screening for antihyperlipidemic activities in foodstuffs by evaluating lipoprotein profiles secreted from human hepatoma cells」

J Nat Med (2011) 65:670–674

サービス価格・検体送付方法 等

お客様の試験系にて取得した培養上清サンプルを弊社へ送付頂き、弊社にてリポタンパク質を解析致します。

【価格（税別）】

＜大学ご所属の皆様＞ Cho&TG :18,000円、 FC&PL:30,000円

＜企業ご所属の皆様＞ Cho&TG :24,000円、 FC&PL:36,000円

【検体量】 培養上清 300 μ L 培養に用いている培地 600 μ L

(培地の測定データをバックグラウンドとして差引くことにより、細胞から分泌されたリポタンパク質のデータを算出できます。)

【送付方法】 4 $^{\circ}$ C冷蔵にて1週間以内に送付（冷凍にて送付される場合にはご相談下さい）

【送付先】

〒011-0911 秋田県秋田市飯島字砂田100-4 (株)スカイライト・バイオテック 解析センター

TEL 018-880-5060（送付前に弊社東京サービスセンターへご連絡ください）

【注意事項】

- 凍結融解を繰り返すことにより、リポタンパク質の分解が促進される可能性があります。
- 元々のサンプル濃度によっては、N.D.となる可能性がありますので、ご了承下さい。
- バックグラウンドとなる培地測定にも、サンプルと同じ料金が発生します。不要の場合にはお申し付け下さい。
- 被験物質をご提供して頂き、細胞培養から弊社にて受託する方式も可能です。ご相談下さい。
- サービス内容、価格は予告なく変更することがございます。予めご了承下さい。