

PXB-cells LA

脂質代謝研究用の新鮮ヒト肝細胞

— 製品紹介 —

PXB-cells LA は 2018 年度の『成長型中小企業等研究開発支援事業（旧サポイン事業）』の助成による研究開発製品です

もくじ

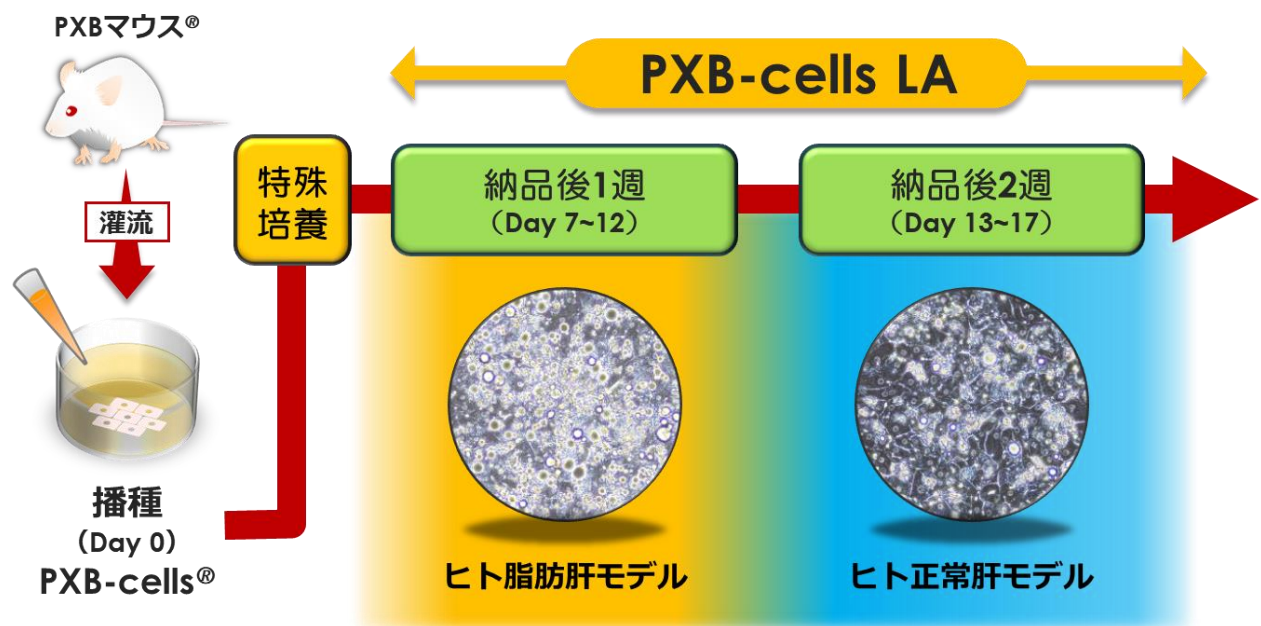
はじめに.....	1
PXB-cells LA について	1
PXB-cells LA の特徴.....	2
PXB-cells LA の脂質代謝性能	2
PXB-cells LA の抗脂質薬・食品に対する反応	5
PXB-cells LA のラインナップ	7
PXB-cells LA のご注文から納品までの流れ	8
FAQ	9
参考文献.....	10

はじめに

- ・ PXB-cells LA は研究目的以外にご使用いただくことはできません。
- ・ 本記載の価格は 2022 年 4 月現在の価格です。価格に消費税は含まれておりません。一部費用が予告なく変更される場合がありますので、あらかじめご了承ください。

PXB-cells LA について

PXB-cells LA (Lipid Analysis) は、ヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス®) から、コラゲナーゼ灌流により回収した新鮮ヒト肝細胞 (PXB-cells®) に特殊な培養法を施し、脂質解析に最適化したヒト脂肪肝細胞です。納品後の培養日数により、ヒト脂肪肝モデルまたはヒト正常肝モデル肝細胞としてご利用頂く事が可能です。



PXB-cells LA の製造方法

PXB マウスとは：

ドナーに対する適正なインフォームド・コンセントが得られていることを確認済みであるヒト肝細胞を使用して生産したヒト肝細胞キメラマウスです。

コラゲナーゼ灌流とは：

肝臓の結合組織をコラゲナーゼで分解し、肝実質細胞を回収します。播種直前の細胞生存率は 80%以上です。

PXB-cells LA の特徴

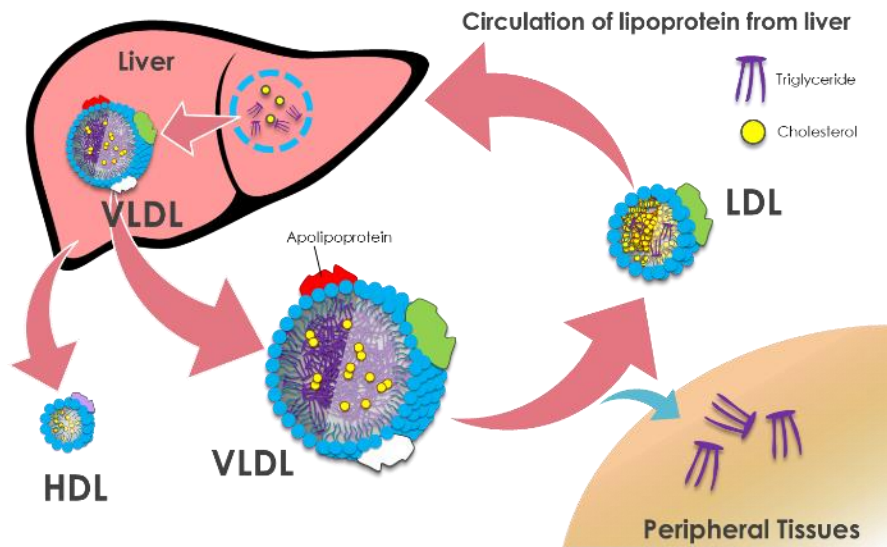
- 新鮮ヒト肝細胞と同じ脂質代謝機能を納品後に最大 10 日間、高いレベルで維持することが確認されています。
- 肝細胞内にヒト脂肪肝の組織像に類似した大型の脂肪滴を形成します。また、脂肪肝のリポタンパク質プロファイルの特徴の一つである粒子径の大きい VLDL (Large-VLDL) を分泌することが確認されています。
- ヒトアルブミンの分泌、薬物代謝酵素やトランスポーター活性を培養下で長期間維持することが可能です
- 同じドナー由来の高品質の新鮮ヒト肝細胞を安価で安定供給できます（繰り返し実験可能）
- 抗脂質薬に対し、臨床試験と類似の反応が得られることを確認しております。



PXB-cells LA の脂質代謝性能

<肝臓を中心としたリポタンパク質の循環について>

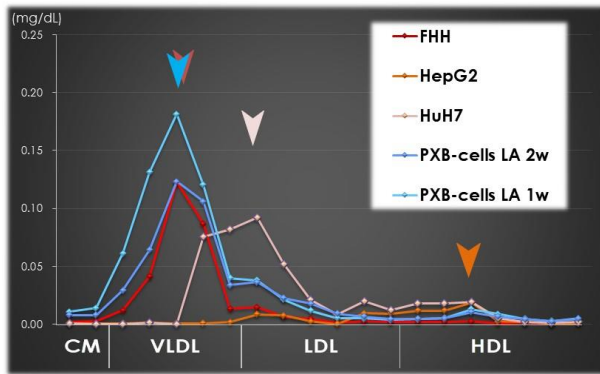
ヒト肝臓は体内の脂質代謝サイクルにおいて重要な役割を担っております。肝細胞はリポタンパク質の一種である VLDL (Very Large Density Lipoprotein) を合成・分泌することで、トリグリセリド・コレステロールを辺縁細胞に供給します。



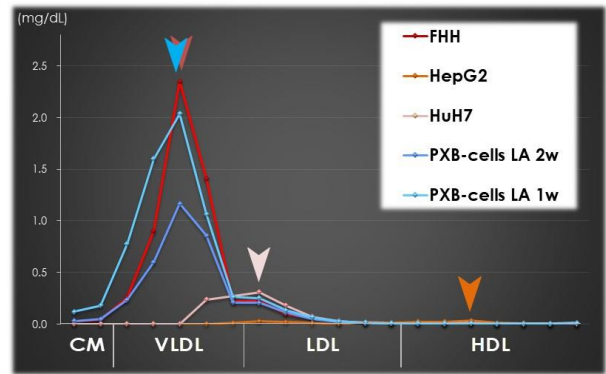
これまで、脂質代謝研究で多く使用されてきたヒト肝癌由来細胞（HepG2 等）は、ヒト肝細胞本来の脂質代謝機能が不完全であるために、VLDL の分泌能が極めて低い事が確認されております。

PXB-cells LA は高い脂質分泌機能に加え、同細胞が分泌するリポタンパク質プロファイルは新鮮ヒト肝細胞に極めて類似した分画を示すことが確認されております。

<PXB-cells LA*, 新鮮ヒト肝細胞（FHH）およびヒト肝癌由来細胞（HepG2, HuH7）の脂質プロファイル>



コレステロール

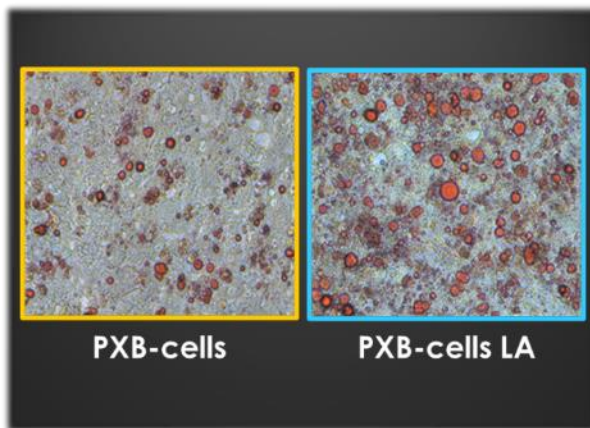


トリグリセリド

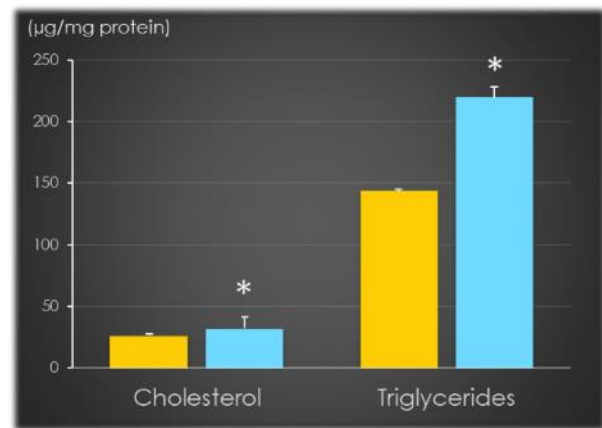
*播種後 1 週間および 2 週間（矢印は各細胞のピーク位置を示しております）

また PXB-cells LA は、当社の従来素材である PXB-cells と比較して、細胞内・細胞外脂質量（特にトリグリセリド）のいずれも高いレベルを示す事が確認しております。また細胞内に多くの大型の脂肪滴が蓄積され、FSP27 や PLIN2 などの脂肪滴関連タンパク質発現が高い事から、脂肪滴の維持機能が亢進されていると考えられております。

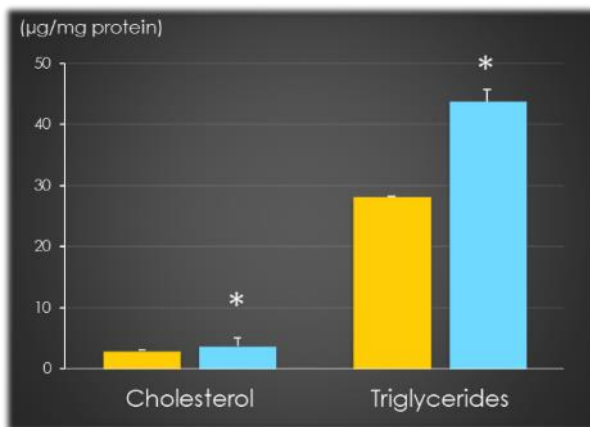
< PXB-cells LA の脂質代謝機能 >



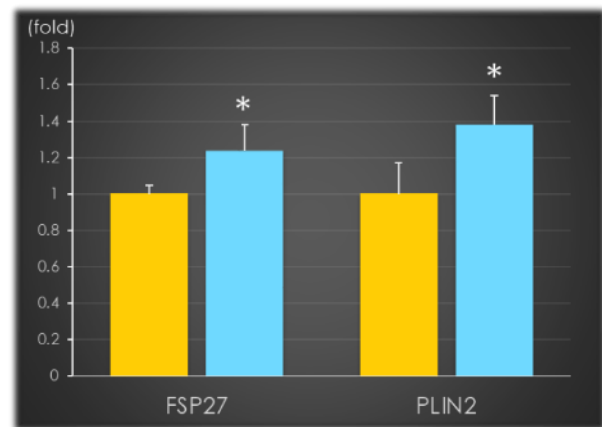
Oil red-O 染色による脂肪滴染色（Day 6）



細胞内脂質量



細胞外（分泌）脂質量



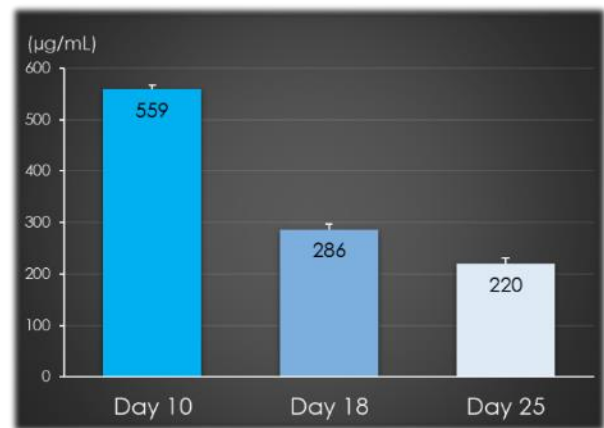
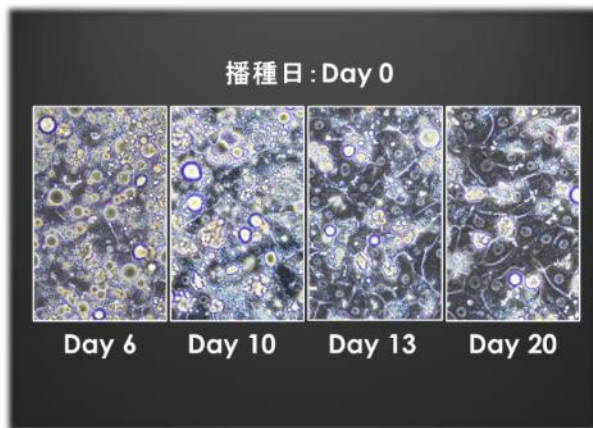
脂肪滴関連タンパク質発現

■ PXB-cells ■ PXB-cells LA

* : P < 0.05 (vs PXB-cells)

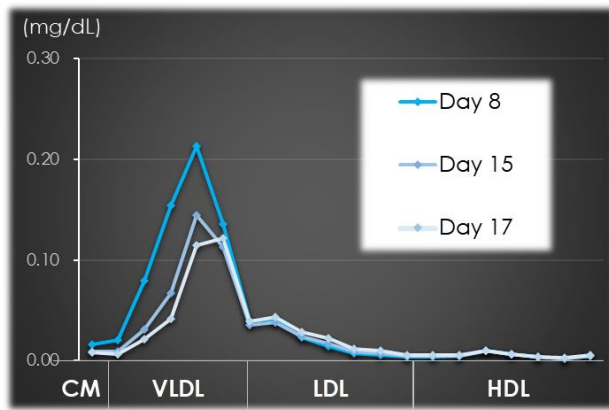
<ヒト脂肪肝の再現>

PXB-cells LA は培養日数の経過とともに細胞内脂肪滴が消失し、細胞内脂質量及び脂質分泌量が減少します。
(Day 0 = 播種日)

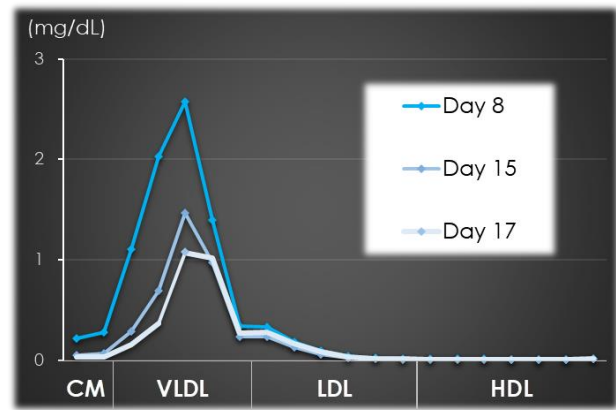


細胞画像（白色部：脂肪滴）

細胞質内脂質量
培養日数比較



培養上清中リポタンパク質分画（コレステロール）
培養日数比較



培養上清中リポタンパク質分画（トリグリセリド）
培養日数比較

PXB-cells LA の抗脂質薬・食品に対する反応

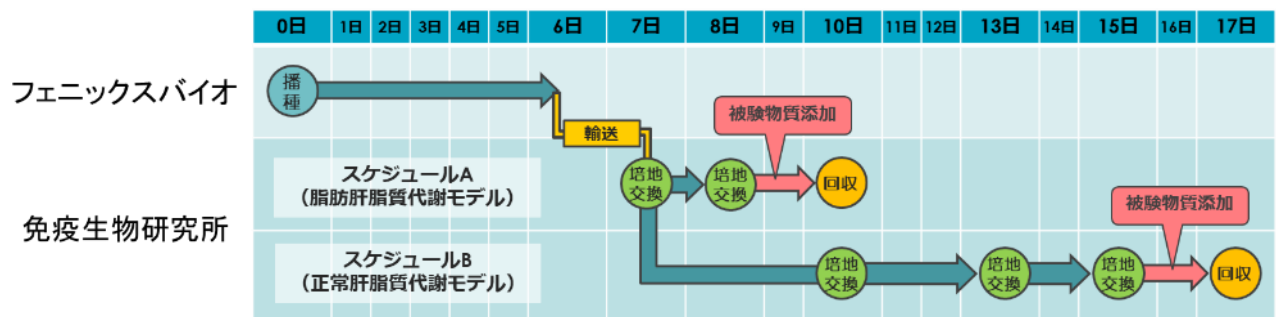
PXB-cells LA は脂質異常症の予防成分や治療成分などの評価にご利用頂く事が可能です。

<例：PXB-cells LA を用いた薬物添加試験（株式会社 免疫生物研究所にて実施）>

1. 被験物質

被験物質名	作用
ロミタピド （脂質降下薬）	ミクロソームトリグリセリド輸送タンパク質（MTP）に直接結合することで、肝細胞中のトリグリセリドとアポ蛋白 B を含むリポタンパク質の転送を阻害し、肝細胞でのVLDL の形成を阻害します。
ラクトフェリン （食品由来成分）	生乳に含まれる鉄結合性糖タンパク質です。近年の研究により、内臓脂肪細胞による脂肪生成を抑制することが知られ、メタボリックシンドロームの予防・改善のための成分として広く利用されています。

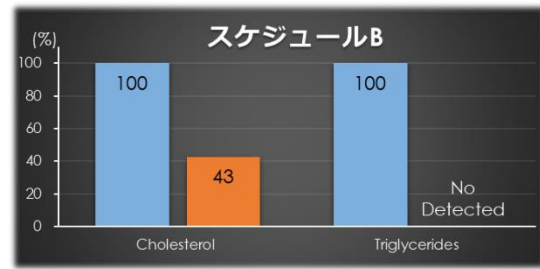
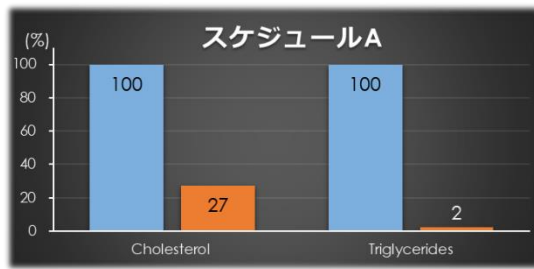
2. 培養スケジュール



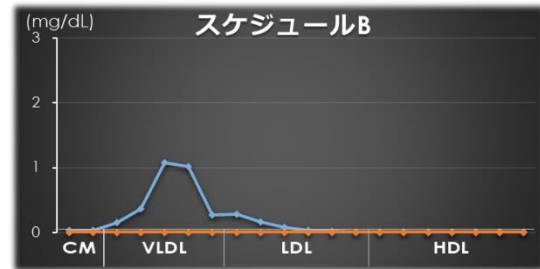
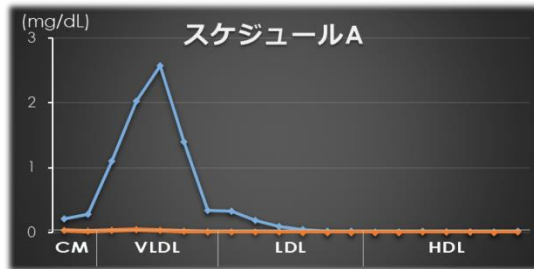
3. 結果

何れのスケジュールにおいても、被験物質を添加した群は培養上清中の脂質分泌量が低下しました。

<ロミタピド>



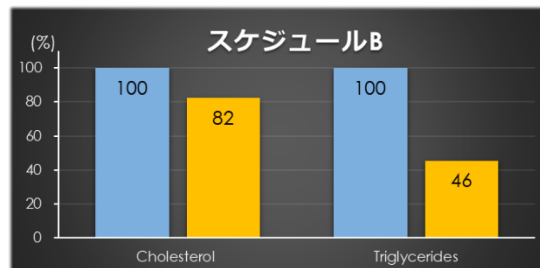
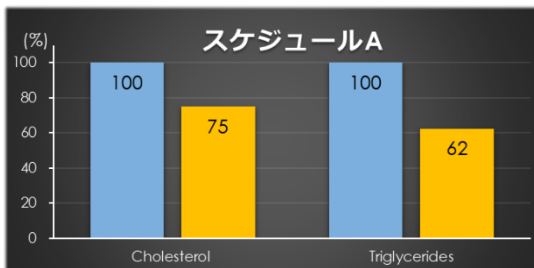
上清中脂質量相対値 (Control : 100)



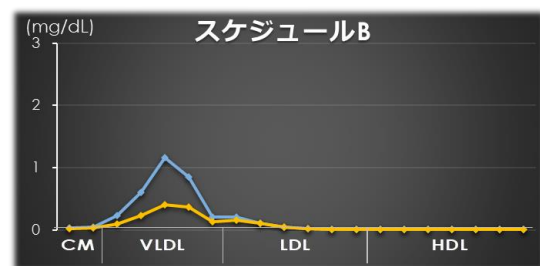
培養上清中リポタンパク質-トリグリセリド分画の変化



<ラクトフェリン>



上清中脂質量相対値 (Control : 100)



培養上清中リポタンパク質 (トリグリセリド) 分画の変化



PXB-cells LA のラインナップ

PXB-cells LA は培養プレートに播種された状態で発送されます（Ready-to-use）。

播種密度は 2.1×10^5 cells/cm² となります。

製品番号	Type	播種プレート*の 型式番号	細胞数 ($\times 10^5$ cells/well)	推奨培地量 (μ L/well)	価格（税別）
PLA-P24	24-well	356408	4.0	500	¥130,000

*BioCoat™ Collagen I clear plate（Corning）を使用しています。

- ・プレートは室温で輸送致します。輸送にあたりパッキング・輸送費用として¥13,000（税別）が別途必要となります。
遠隔及び離島エリアへ配送する場合、送料のほかに別途追加料金が発生する場合がございます。

<PXB-cells 培地：PXB-cells LA の維持培養に最適化された培地です>

製品番号	容量	価格（税別）
PPC-M100	100 mL	¥20,000
PPC-M200	200 mL	¥40,000

- ・培地は冷蔵で輸送致します。輸送にあたりパッキング・輸送費用として¥5,000（税別）が別途必要となります。
遠隔及び離島エリアへ配送する場合、送料のほかに別途追加料金が発生する場合がございます。
- ・1 個口あたり、PPC-M100 は 10 本、PPC-M200 は 6 本を梱包できます。
- ・保管温度および保管期限：冷蔵（4℃ 保管）で 1 ヶ月（未開封）を目安にご使用ください。

PXB-cells LA のご注文から納品までの流れ

PXB-cells をご注文～納品までの流れは以下の通りです。



1) PXB-cells LA のご依頼（ご注文）

所定の PXB-cells LA 依頼書に必要事項をご記入頂き、PXB-cells 専用アドレス (pxb-cells@phoenixbio.co.jp) または FAX (082-431-0017) へお送り願います。

2) PXB-cells LA の注文請連絡

依頼書を承りましたら、ご依頼内容・費用・納期をご案内致します。毎週火曜日までのご依頼でしたら、最短で翌々週の火曜日に納品致します。

3) PXB-cells LA の調製・播種

毎週月曜日に PXB マウスを選定し、翌火曜日に灌流・細胞播種を実施致します。

4) PXB-cells LA の出荷

毎週月曜日に播種 6 日の PXB-cells LA の状態を確認した後に出荷致します。

5) PXB-cells LA の入荷（納品）

通常 PXB-cells LA は、翌日火曜日に納品となります（一部地域を除く）。

6) PXB-cells LA のご請求書等郵送

PXB-cells LA 出荷後に、別途ご請求書等の書類一式を郵送致します。（出荷の翌日以降に当社発送）

FAQ

詳細な技術関連のご質問につきましては、製品マニュアルをご確認ください。

Q1：薬物反応時などに使用する際の推奨培地はありますか？

A1：William's E (A12176-01: Thermo Fisher Scientific) に Cell Maintenance Supplement Pack (CM4000: Thermo Fisher Scientific) を指定量加えたものをご利用いただけます。

*本紙記載の上清中脂質パラメーターはこの培地を用いて得られた結果となります。

Q2：上清中脂質の解析方法について教えてください。

A2：リポタンパク質・脂質プロファイル解析 (LipoCULTURE: 株式会社 免疫生物研究所) により、上清中の総脂質量だけでなく、各リポタンパク質中の脂質量についても解析する事が可能です。詳しくは、同社のウェブサイトをご確認ください。

また総トリグリセリドの測定にはコレステスト®TG (積水メディカル株式会社) をご利用頂ける場合がございます。

Q3：細胞質中脂質量の解析方法について教えてください。

A3：コレステスト®CHO およびコレステスト®TG (積水メディカル株式会社) をご利用頂く事で、解析が可能です。詳細につきましては、PXB-cells LA マニュアルのアプリケーションノートをご参照ください。

Q4：ヒトアルブミンの測定方法は？

A4：当社では「LZ テスト'栄研' U-ALB」を使用して、ヒトアルブミン値を測定しています。測定原理はラテックス凝集免疫比濁法 (測定: カイネティックス法) です。

Q5：培養上清中の脂質代謝関連のタンパク質解析は可能ですか？

A5：株式会社 免疫生物研究所では ApoB100 を初めとした、多数の脂質代謝関連 ELISA (酵素結合免疫吸着アッセイ) のライブラリをご用意しております。詳しくは、株式会社 免疫生物研究所のウェブサイトをご確認ください。

Q6：細胞質中の遺伝子やタンパク質発現解析は可能ですか？

A6：可能です。

特に推奨される遺伝子/タンパク質抽出方法はございませんが、培養ウェルに直接、抽出液を添加・溶解後に回収頂く事で、抽出効率が向上します。

Q7：PXB-cells LA を用いた受託試験は実施可能ですか？

A7：株式会社 免疫生物研究所にて受託試験が可能です。詳しくは、株式会社 免疫生物研究所のウェブサイト (<https://www.ibl-japan.co.jp>) をご確認ください。

参考文献

- 1) Hata et.al. Lipoprotein profile and lipid metabolism of pxb-cells®, human primary hepatocytes from liver-humanized mice: proposal of novel in vitro system for screening anti-lipidemic drugs (2020) *Biomedical Research (Japan)*, 41 (1), pp. 33-42.
- 2) Tomatsu et.al. High-throughput screening of anti-lipidemic agents using PXB-cells®, human primary hepatocytes from humanized mice livers: Assessment of lipoproteins by an enzyme-linked immunosolvent assay on apolipoproteins (2021) *J. Biol. Macromol.*, 21 (2), 89-92

最新の PXB-cells LA 関連の学会発表につきましては、こちらをご参照ください。
(当社ホームページへリンクします)



ご不明な点がございましたら、当社までお問い合わせください。

お問い合わせ先

株式会社フェニックスバイオ

本社：広島県東広島市鏡山 3 丁目 4 番 1 号

TEL：082-431-0016 FAX：082-431-0017

E-mail：pxb-cells@phoenixbio.co.jp

<https://phoenixbio.co.jp>