



Mylcを使った各種評価を、どこでも手軽に。

MylcMATキット（研究用）

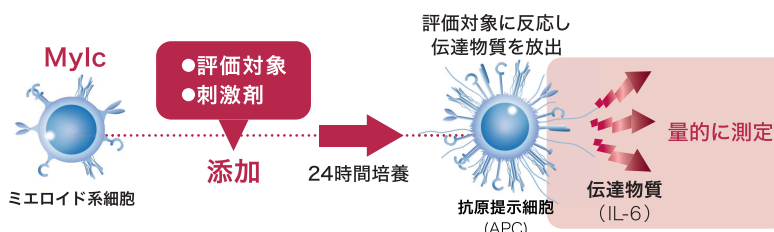
Monocyte Activation Test (MAT) は、再生医療などの新しいモダリティにおいて重要とされています。マイキャン・テクノロジーズは、ヒト末梢血単核球由来の不活化細胞である「aMylc 細胞」と呼ばれる細胞を用いたパイロジェン試験法を開発しました。この最適化キットを使用することで、評価を迅速に開始することができます。試験物質を添加してから 24 時間以内に結果を得ることができます。



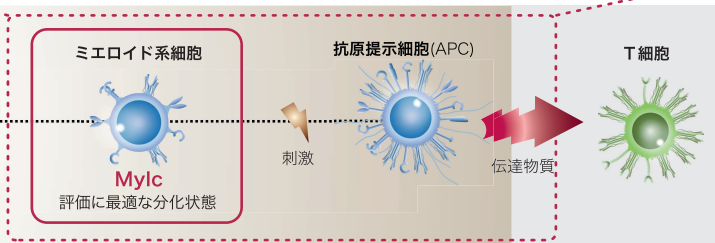
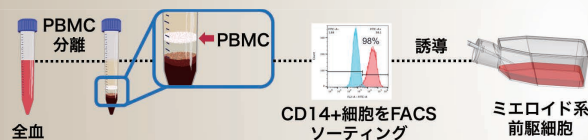
評価原理

被験物質を添加した際に、Mylc細胞の表面にあるC型レクチン受容体(CLR)やトール様受容体(TLR)などに作用し、産生される炎症性サイトカイン(IL-6)を測定します。
既存の細胞より低濃度から評価可能であることや、キット開封後1日で結果が得られることなどが特徴です。

Mylc(ミエロイド系細胞)に評価対象を添加すると、IL-6など様々な物質を産生します。



Mylc細胞とは？



※ PBMC由来のMylc細胞:aMylc iPS細胞由来のMylc細胞:iMylc

評価の手順



Mylc細胞解凍

ウォーターバスにパイアルを浸し細胞を解凍します。

Mylc細胞調製

遠心分離洗浄後、専用培養液に細胞を懸濁させます。

細胞播種

お手持ちの96well plateに一定数細胞を播種します。

評価物質添加

評価対象とコントロール物質を添加し24時間培養します。

培養上清を回収

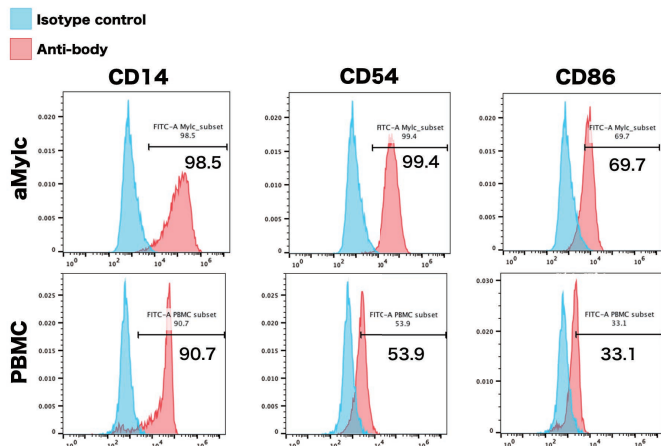
各wellの培養上清を取り、キットの96wellに移します。

培養上清中IL-6の測定

ELISAキット添付の方法で呈色反応を測定します。

PBMCとの比較実験

aMylc 細胞と、PBMC 由来 CD14 陽性細胞との、CD14, CD54, CD86 の発現を確認しました。



磁気ビーズを使用し、PBMC から CD14 陽性細胞を回収した細胞と aMylc 細胞を FACS にて表面マーカーを測定しました。

あらかじめ凍結した aMylc 細胞を解凍し、解凍直後に FACS で測定を実施しました。

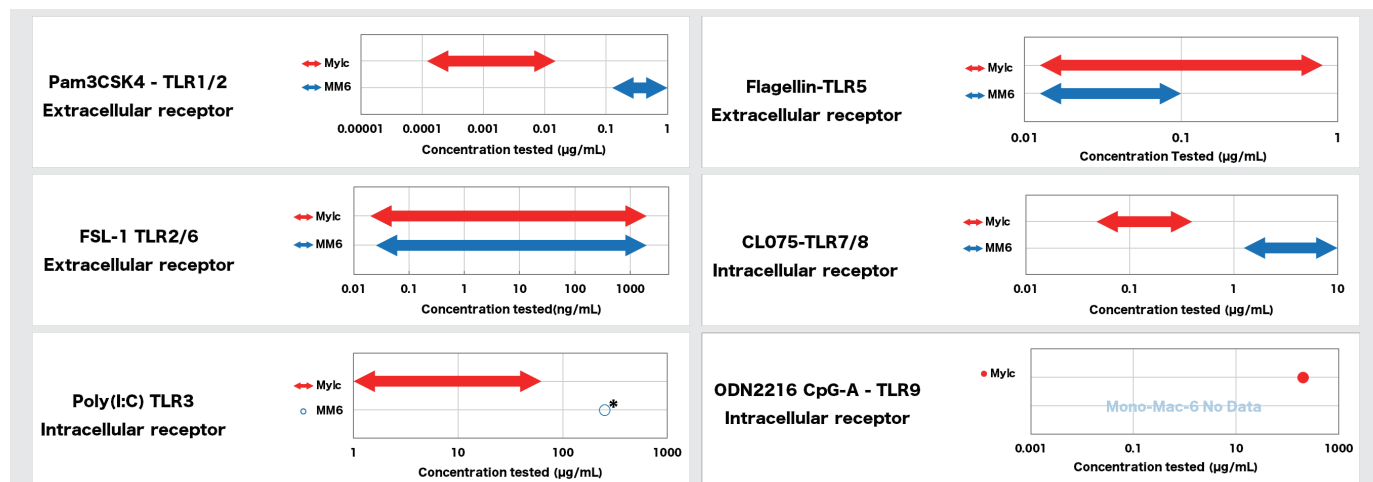
CD14、CD54、CD86 を評価した結果、いずれも陽性を維持していることが判明しました。

Mono-Mac-6との比較実験

aMylc と Mono-Mac-6 に 6 種類の発熱物質の希釈系列を作り添加し、IL-6 の産生量を比較しました。

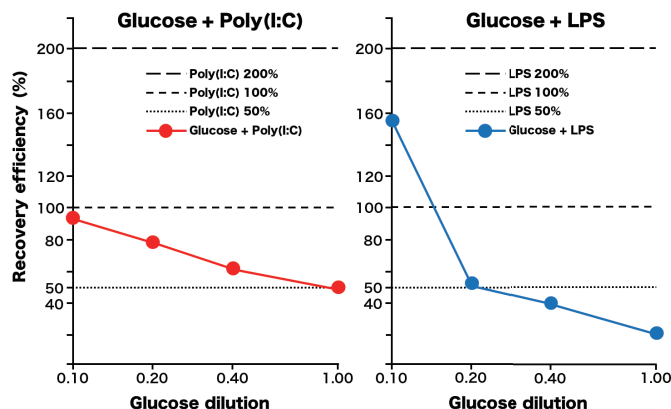
各発熱物質の濃度に対する刺激への応答性をグラフにしています。

下記グラフにある*は最高濃度でも刺激への応答がなかったことを意味します。



被験物質-ブドウ糖 干渉実験

希釈したブドウ糖液に 1% Poly (I:C)、または LPS を添加し混在した条件下で干渉実験



希釈したブドウ糖液に 1% Poly (I:C) または LPS を混在させた検体を準備し、混在下での刺激物質の干渉実験を実施しました。

評価はフライヤー表面「医薬候補物質のスクリーニング / 安全性評価の一例と手順」に記載した ELISA を使用し、混在しない Poly (I:C) 及び LPS での結果基準に回収率を算出しました。

ブドウ糖液を希釈しない状態（製品そのものを使用時を 1 とした）に Poly (I:C) を添加した際、回収率は 50% であり、10 倍希釈したブドウ糖液では、90% 強の回収率となりました（左図）。