

POCA[®] 小腸吸収 (CACO-2) PC Q&A

【目次】

- Q1：POCA 小腸吸収 (CACO-2) はどのような製品ですか？
- Q2：CACO-2 細胞自身のトランスポーター発現データや、薬物を吸収させた時のデータはお持ちですか？
- Q3：プレートタイプやメンブレンのポアサイズの選択は可能ですか？ また、どのように使い分けますか？
- Q4：CACO-2 細胞の膜抵抗値はある程度の希望の値のものを送っていただく事は可能ですか？
- Q5：製品が到着後、培地を交換しインキュベーターに入れると説明書に記載ありますが、その培地中に血清や抗生物質も添加しますか？
- Q6：CACO-2 細胞は継代可能でかつ実験者が Transwell プレートに播種しアッセイ可能ですが、このようなサービスを始めた理由は？
- Q7：製品はどのように送られて来ますか？
- Q8：購入後、細胞の状態が良くない場合、補償はしてもらえますか？
- Q9：透過性試験用サンプルの前処理はどのようにしますか？
- Q10：インサート側からマルチウエル側の透過性評価をする場合には、プレインキュベーションする前にインサート側だけ HBSS +HEPES で1~2 回洗浄するとパンフレットに記載されておりますが、反対方向の吸収評価をする場合はインサート側ではなくマルチウエル側を1~2 回洗浄することになるのでしょうか？
- Q11：使用 Transwell プレートのメンブレンの種類を教えてください。
- Q12：各ウエルプレートの 1well あたりのインサート側メンブレンの直径と表面積を教えてください。
- Q13：製品が到着後、何日目位まで透過試験に使用可能ですか？
- Q14：出荷時に添付しております膜抵抗値はいつ測定された時の値ですか？
- Q15：アッセイするためのプロトコールはお持ちですか？
- Q16：経時的にアッセイするために、インサート内側・外側のバッファの容量を規定量より多く入れたいのですが、可能ですか？

【回答】

- Q1：POCA 小腸吸収 (CACO-2) はどのような製品ですか？
- A1：英国の公的な細胞バンクである ECACC (<http://www.phe-culturecollections.org.uk/collections/ecacc.jsp>) より CACO-2 細胞を仕入れ、Transwell プレートに 19 日間 (2~3 日に一回培地交換) 培養させた状態でお届けしている製品で、化合物等の吸収評価などに使用致します。
- 製品は全て ECACC のオリジナル CACO-2 を使用しプレートに播種しているため、一定の品質でお送りすることが可能です。
- Q2：CACO-2 細胞のトランスポーター発現データやロット間差がないデータはお持ちですか？
- A2：P-gp (MDR-1) と BCRP に関する輸送能と阻害能のデータを取得しており、両トランスポーターの発現と機能を確認しております。また CACO-2 細胞 2ロットにおいてロット差がないことも確認済みです。詳細につきましては下記アドレスよりご確認ください。
- <http://www.saibou.jp/service/poca/pdf/poca-caco2-leaflet.pdf>

Q3：プレートタイプやメンブレンのポアサイズの選択は可能ですか？ また、どのように使い分けますか？

A3：基本的にプレートはコーニング社の 12、24well Transwell プレートの中から選択していただき、メンブレンのポアサイズの大きさにつきましても、0.4、3 μ m から選択可能です。0.4 μ m は細胞培養や共培養のアプリケーション、薬物輸送研究に使用されます。3 μ mは、ケモタキシスや血管新生のアプリケーションに推奨されます。(Corning 社掲載カタログ情報)

Q4：CACO-2 細胞の膜抵抗値はある程度の希望の値のものを送っていただく事は可能ですか？

A4：通常は培養開始後 19 日目に発送し 20 日目に到着させておりますが、低い抵抗値をご希望の場合には、別途お問い合わせ下さい。(連絡先：06-6435-9747)

Q5：製品が到着後、培地を交換しインキュベーターに入れると説明書に記載ありますが、その培地中に血清や抗生物質も添加しますか？

A5：D-MEM (Low/High グルコースタイプどちらでも可、グルタミン最終濃度 2mM) に約 10%になるように FBS (非働化済み FBS が望ましい) を添加し調製したもので培地交換します。
抗生物質につきましては、実験系により添加していただいても問題ございません。

Q6：CACO-2 細胞は継代可能でかつ実験者が Transwell プレートに播種しアッセイ可能ですが、このようなサービスを始めた理由は？

A6：まず培養期間が 20 日間と長い点と、施設間により化合物の透過速度のバラツキが大きいことがサービスを開始した大きな要因です。弊社は品質保証を担保している英国の公的細胞バンクである ECACC より細胞を輸入し、継代を経ずに播種しているため、一定の品質の製品をお送りしております。

Q7：製品はどのように送られて来ますか？

A7：12well プレート、24well プレートともに、インサートカップを下記画像のように別容器に入れた形で発送しております。冬場は蓄熱材とカイロを同梱し温めた状態で発送しております。



<12well>



<24well>

Q8：購入後、細胞の状態が良くない場合、補償はしてもらえますか？

A8：配送状態により若干の培地が漏れている場合がございますが、膜抵抗値が300 Ω 以上あれば性能に問題はございません。膜抵抗値が300 Ω 以下の場合には代替品を発送させていただいております。

Q9：透過性試験用サンプルの前処理はどのようにしますか？

A9：透過試験を実施する化合物や素材により異なりますが、DMSOなどの溶媒で溶解したサンプルを、DMSOの最終濃度が0.1%以下になるように HBSS-HEPES などのバッファーに溶解しております。

Q10：インサート側からマルチウエル側の透過性評価をする場合には、プレインキュベーションする前にインサート側だけ HBSS-HEPES で1～2回洗浄するとパンフレットに記載されておりますが、反対方向の吸収評価をする場合はインサート側ではなくマルチウエル側を1～2回洗浄することになるのでしょうか？

A10：反対方向の吸収評価時も、インサート側を再度洗浄して下さい。

Q11：使用 Transwell プレートのメンブレンの種類を教えてください。

A11：コーニング社の Transwell プレートを使用しており、メンブレンの材質はポリカーボネートです。

Q12：各ウエルプレートの1wellあたりのインサート側メンブレンの直径と表面積を教えてください。

A12：24wellは6.5mmで0.33cm²、12wellは12mmで1.12cm²です。

Q13：製品が到着後、何日目位まで透過試験に使用可能ですか？

A13：到着日を含め3日目位（例：6/1に到着した場合、6/3）までご利用可能ですが、3日目は膜抵抗値が高く機能を担保していない場合がございます。

Q14：出荷時に添付しております膜抵抗値はいつ測定された時の値ですか？

A14：膜抵抗値測定はメルク社の MillCell を使用しております。出荷前に培地中に直接電極を差し込み測定した後、新しい培地に交換して出荷しております。

Q15：アッセイするためのプロトコールはお持ちですか？

A15：お客様によりアッセイ方法が様々なため、決まったプロトコールは持ってありません。ただ一般にご利用されております Transport Buffer と致しましては HBSS (with Ca²⁺, Mg²⁺) に HEPES (10mM) やグルコース (25mM) を添加させ pH を 7.4 付近に調整したものに、サンプルを溶解させた PBS もしくは DMSO (0.1%以下) を添加溶解して透過試験を実施しております。Ca²⁺, Mg²⁺は細胞間接着に影響がございますので、両イオンを含まない Buffer を使用致しますと、バリア機能が弱くなります。トランスポーターの中には pH の影響を受けるものもございますので、必要に応じて pH の調整をして下さい。（インサート側 pH6.4、マルチウエル側 pH7.4 など）

Q16：経時的にアッセイするために、インサート内側・外側のバッファーの容量を規定量より多く入れたいのですが、可能ですか？

A16：24wellのみ確認しております。24wellの規定量はインサート内側 100μL、外側 600μL ですが、最大インサート内側が 300μL、インサート外側が 1,300μL 入ります。ただインサート内側は漏れないギリギリの容量のため、内側は 200μL、外側 1,200μL を推奨しております。

2019年10月



株式会社 **ケー・イー・シー**

株式会社 **ケー・イー・シー**
試薬事業部

〒661-0978 兵庫県尼崎市久々知西町2丁目1-20

(お問い合わせ窓口)

TEL: 06-6435-9747 FAX: 06-6435-9748

URL: <http://www.kacnet.co.jp/>

E-mail: cs-info@kacnet.co.jp