

POCA 小腸吸収 (CACO-2) 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穴の大きさ指定と価格はおいくらですか？
- 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：製品が到着し泡立ちが多い場合、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自分たちでトランズウエル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、保証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されますか？
- Q10：インサート (Apical) 側からマルチウエル (Basal) 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：使用トランズウエル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 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どのような条件時の値ですか？
- Q15：アッセイするためのプロトコールはお持ちですか？

【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、トランスウエルプレートに 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、化合物等のサンプル吸収評価などに使用致します。
ご注文時に ECACC からのオリジナル 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？

A2：トランスポーターのデータにつきましては、P-gp と BCRP のみ輸送能と阻害能の機能測定を関連会社の住化分析センターに委託し、確実に機能しているデータを取得しております。現在のところ、外部に公表はしておりませんがご希望の場合にはお問い合わせ下さい。また住化分析センターでは弊社製品を使用した化合物を使用した膜透過性評価のデータを web 上 (<http://www.scas.co.jp/analysis/pdf/tn382.pdf>) にも掲載しており、数種類の化合物が FDA 基準と同様の透過クラスであることを証明したデータを取得しております。

Q3：プレートタイプやメンブレンの穴の大きさ指定と価格はおいくらですか？

A3：基本的にプレートはコーニング社の 6、12、24well プレートの中から選択していただき、メンブレンの穴の大きさにつきましても、0.4、3 μ m から選択可能ですが、基本的には 0.4 μ m を推奨しております。ポアサイズが大きい場合、細胞自身がメンブレンの穴に浸潤し、化合物を透過させない可能性があります。
またどのプレート、メンブレンポアサイズのものでも、120,000 円/プレートです。
同時に 4 プレートまで出荷可能で、その際の価格は下記の通りです。

- 120,000 円/1 プレート (カタログ番号：DSPOCA001-ZS)
- 170,000 円/2 プレート (カタログ番号：DSPOCA002-ZS)
- 225,000 円/3 プレート (カタログ番号：DSPOCA003-ZS)
- 240,000 円/4 プレート (カタログ番号：DSPOCA004-ZS)

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：通常はご注文後 20 日目に発送し 21 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、培養開始から早めの 17~18 日目に発送し抵抗値を抑えたものをお送りすることは可能です。

Q5：製品が到着し泡立ちが多い場合、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：交換する培地 (基本的には 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 4mM) に約 10%になるように FBS (非道化が望ましい) を添加し調整したものを交換します。
抗生物質につきましては、基本的には入れないケースが多いですが、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自分たちでトランスウエル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 日間と長く面倒な点と、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 1vial を 1~4 プレートに細胞を播種し一定の品質の物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？

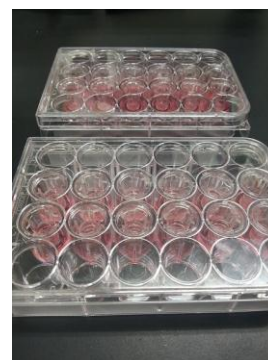
A7：6、24well プレートにつきましては、インサート側をマルチウエル側に熱圧着させ、その上から熱圧着シーリングをして送っておりますが（インサート側の取り外し不可）、12well につきましては若干形状が違っていることよりインサートを別容器に入れて発送しております。（下記写真） インサート側の取り外しをご希望の場合には弱い熱圧着によるシーリングにてお送りさせていただきますのでご注文の際にその旨専用注文書にご記入下さい。

※ 24well プレートにつきましては B、C 列の 2 列（12well 分）に細胞を播種し 2 プレート届きます。

<12well 時>
別途マルチ
ウエル側送付



<24well 時>



Q8：購入後、細胞の状態が良くない場合、保証はしてもらえますか？

A8：発送状態により培地がこぼれてたり膜抵抗値が 300Ω（オーム）以下などの場合には代替品を発送させていただきます。

ご注文後、注文プレート枚数+1~2 枚をクレーム代替品として一緒に培養播種しているため、クレーム代替品のご依頼の場合には当日もしくは翌日にお送りする体制を取っております。

Q9：透過性試験用サンプルの前処理はどのようにされますか？

A9：透過試験を実施する化合物や食品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 最終濃度 0.1%以下になるように HBSS-HEPES などのバッファーに溶解されております。

Q10：インサート（Apical）側からマルチウエル（Basal）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：両方向ともインサート側、マルチウエル側を HBSS-HEPES にて洗浄します。

パンフレットに記載しております「インサート側だけは・・・」につきましては、その前に一度両側を洗浄しているために次の洗浄は省いております。

Q11：使用トランスウエルプレートのメンブレンの種類を教えてください。

A11：コーニング社のトランスウエルプレートを使用しており、メンブレンの種類はポリカーボネートです。

Q12：各ウエル 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、6wellは 24mm で 4.67cm²です。

Q13：製品が到着後、何日目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日目は膜抵抗値が低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どのような条件時の値ですか？

A14：膜抵抗値測定はミリポア社の MillCell を使用しており、緩衝液には交換せず、そのまま培地中に電極を差し込み測定しております。

通常月・水・金に培地交換、出荷は月もしくは火曜日に出荷しております。

月曜日に出荷の場合は、金曜日に培地交換をし土・日でインキュベート後、月曜日に膜抵抗値を測定後に培地交換をし出荷しております。

火曜日出荷の場合は、月曜日の AM に培地交換をし火曜日の AM に膜抵抗値を測定し、その後培地交換せずに出荷しております。培養数時間後、フレッシュな培地交換後（交換直後は若干下がりますが数時間経過すれば培養数時間後の値に戻ってきます）も膜抵抗値はそれほど変わりません。

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おりません。ただ一般的には HBSS に HEPES やグルコースを添加させ pH を 7.4 付近に調整したものに PBS もしくは DMSO (0.1~0.2%) + サンプルを添加溶解させ透過試験を実施しております。

2014年12月



大日本住友製薬グループ
DSファーマバイオメディカル株式会社
〒564-0063 大阪府吹田市江坂町2丁目1番43号
KYUHO江坂ビル8階
(お問い合わせ窓口)
受注・発送に関するお問い合わせ
TEL 06-6990-8051 FAX 06-6325-6058
テクニカルサポート
TEL 072-636-8160 FAX 072-634-7222
URL : <http://www.dspbio.co.jp>
Eメール : dspb-ls@bio.ds-pharma.co.jp