

POCA[®]小腸吸収（CACO-2）

取扱説明書



目次

1. 製品特徴	P2
2. 梱包内容	P2
3. 製品操作説明	P3
4. 製品 Q&A	P6
5. お問い合わせ先	P8

この度は、POCA[®]小腸吸収（CACO-2）をお求めいただきまして誠にありがとうございます。

ご使用前に下記説明をご一読いただき、ご利用ください。

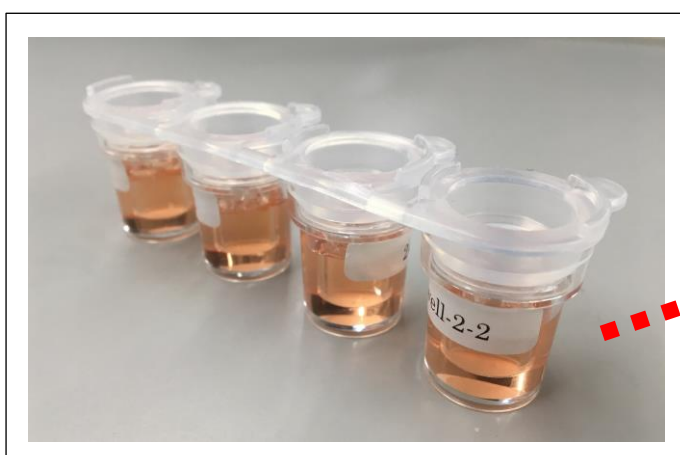
1. 製品特徴

POCA[®]小腸吸収（CACO-2）は「ECACC（The European Collection of Authenticated Cell Cultures）」のCACO-2細胞（ECACCカタログ番号 86010202）をコーニング社のTranswellプレートに播種した状態でお届けする小腸吸収評価用のアッセイキットです。

ECACCのCACO-2細胞（凍結バイアル）を使用し、継代操作なくプレートに播種しているため、一定の品質でお届けすることが可能です。ご注文後、培養を開始し基本的には播種19日目（定期的に培地交換）に発送、20日目に到着致します。

2. 梱包内容

【24well タイプ】

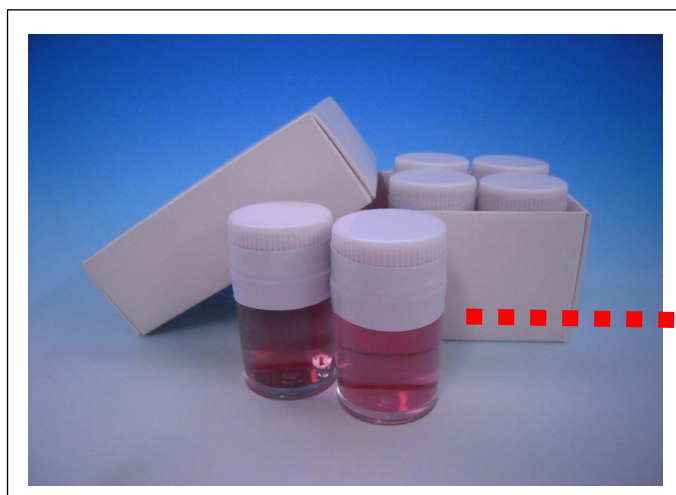


4 カップ組の発送容器になっております。



上段にインサートカップ入り容器
下段に、アッセイ用の空プレートが
入っております。

【12well タイプ】



12well の空プレートも別添でお送りしております。

インサートカップを別容器に入れ、培地で満たした状態で発送しております。

冬場（10～3月）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。

3. 製品操作説明

本製品は発送容器にインサートカップが入った状態で発送しており、輸送により泡立ちが発生している可能性があります。泡立ちの有無に関わらず、下記の手順にて培地交換していただくことを推奨いたします。必ず全ての作業を無菌状態にて行ってください。

(12well タイプの培地交換につきましては、P5 をご参照ください。)

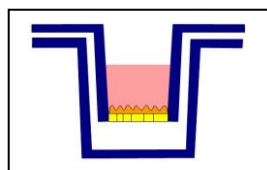
24well プレートタイプ時の培地交換手順



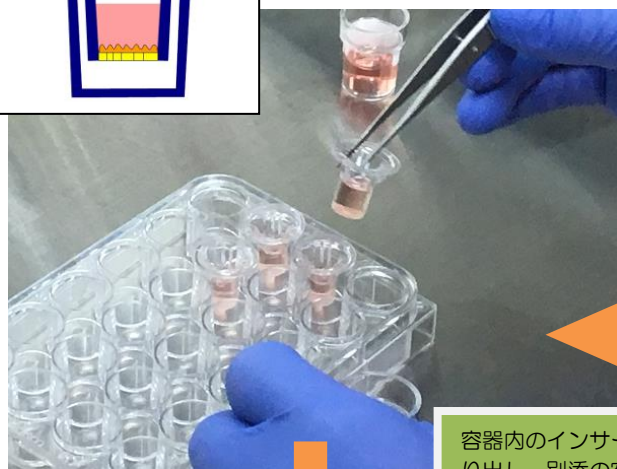
キットから容器を取り出します。



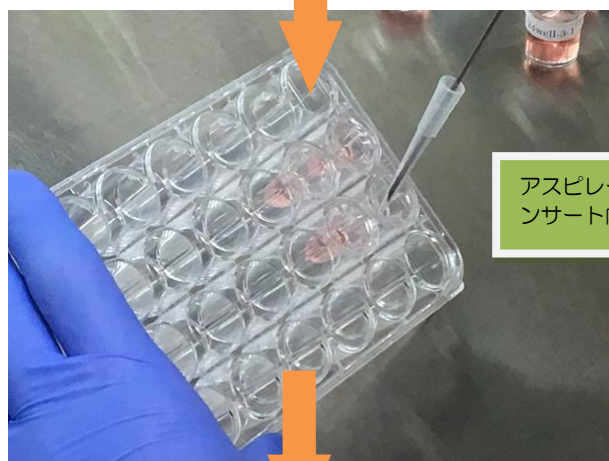
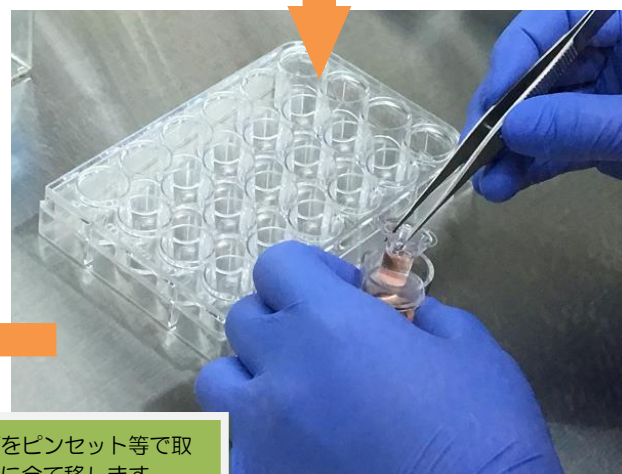
容器上部のキャップを外します。



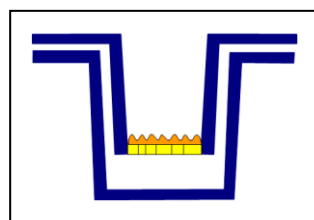
イメージ画像

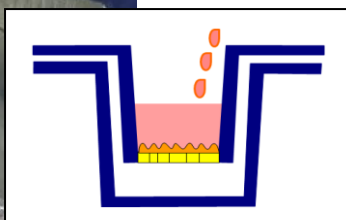
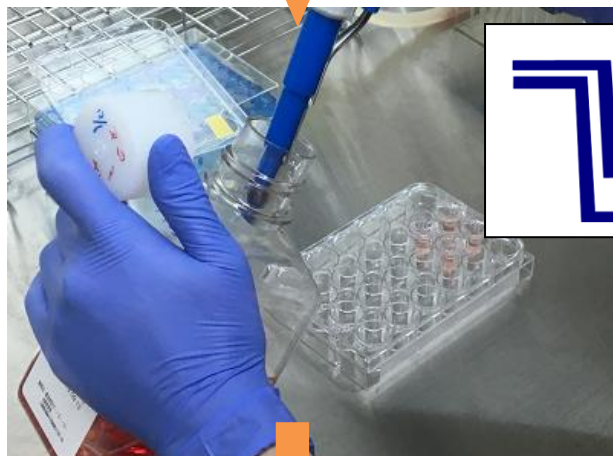


容器内のインサートカップをピンセット等で取り出し、別添の空プレートに全て移します。

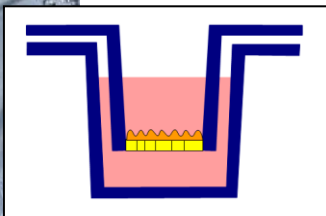


アスピレーターもしくはピペットでインサート内の培地を吸引除去します。





別売の「細胞メンテナンス用培地（品番：DSDSM101）」もしくは調製培地（組成：D-MEM【Low/High グルコースどちらでも可】+FBS10%+2mM グルタミン）を、インサート側から滴下しながら全ての well に **100 μ L** 入れます。外側から入れた場合、メンブレン下側からのバック圧で細胞が剥がれる可能性があります。



インサート上部の隙間よりインサート外側に **600 μ L** 培地を入れます。

全ての培地交換が終了しましたらプレートに蓋をし、37℃、5%の CO₂ インキュベーターに入れ、翌日よりアッセイを開始してください。

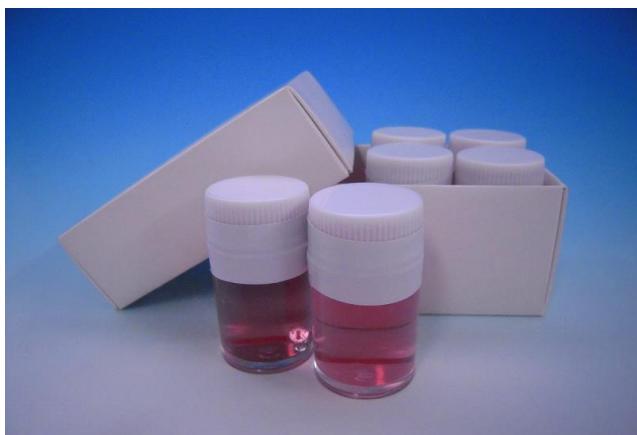
<12well タイプ Transwell プレートの発送形態とアッセイ準備手順>

12well プレートは、発送形態が 24well タイプとは異なります。

下記の操作手順に従って、アッセイまでのご準備をお願いいたします。

<操作手順>

- ① 製品が届きましたら、インサートカップが入った円柱形容器に巻いているビニールテープを剥がし、インサートカップを取り出します。
- ② インサートカップを空の 12well プレートに入れます。
- ③ 別売の「細胞メンテナンス用培地（品番：DSDSM101）」もしくは調製培地（組成：D-MEM【Low/High グルコースどちらでも可】+FBS10%+2mM グルタミン）を、インサート側から滴下しながら全ての well に 500 μ L 入れます。外側から入れた場合、メンブレン下側からのバック圧で細胞が剥がれる可能性があります。
- ④ インサート上部の隙間よりインサート外側に 1500 μ L 培地を入れます。
- ⑤ 全ての培地交換が終了しましたらプレートに蓋をし、37℃、5%の CO₂ インキュベーターに入れ、翌日よりアッセイを開始してください。



4. 製品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を選択は可能ですか？ 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：透過性試験用サンプルの前処理はどのようにしますか？

Q7：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？

Q8：使用 Transwell プレートのメンブレンの種類を教えてください。

Q9：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。

Q10：製品が到着後、何日目位まで透過試験に使用可能ですか？

Q11：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？

Q12：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 (<https://www.culturecollections.org.uk/about-us/ecacc/>) より CACO-2 細胞を入手し、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ご使用いただけます。

製品は全て ECACC の CACO-2 細胞（凍結バイアル）を使用し、継代操作なく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弊社リーフレット（下記 URL）よりご確認ください。

<https://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などの場合には、別途お問い合わせください。（お問い合わせ先：5 項参照）

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：透過性試験用サンプルの前処理はどのようにしますか？

A6：透過試験を実施する化合物や素材により異なりますが、別途弊社リーフレット（Q2 参照）に記載の透過性評価の際は、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ました。

Q7：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？

A7：反対方向の吸収評価時も、インサート側を再度洗浄してください。

Q8：使用 Transwell プレートのメンブレンの種類を教えてください。

A8：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。

Q9：各ウェルプレートの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。

A9：24wellは6.5mmで0.33cm²、12wellは12mmで1.12cm²です。

Q10：製品が到着後、何日目位まで透過試験に使用可能ですか？

A10：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。

Q11：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？

A11：膜抵抗値測定はメルク社のMillCellを使用しております。出荷前日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。

Q12：アッセイするためのプロトコールはお持ちですか？

A12：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、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付近に調整して用いられ、それにサンプルを添加して（DMSOの終濃度0.1%以下）、透過性試験を実施されるようです。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の調整をしてください。（インサート側pH6.4、マルチウェル側pH7.4など）

5. お問い合わせ先

製品の不備、ご質問等ございましたら、下記までご連絡ください。

株式会社ケー・エー・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

TEL：06-6435-9747 FAX：06-6435-9748

E-mail：shiyaku-info@kacnet.co.jp

弊社HPからもお問い合わせ可能です。

<URL><https://www.saibou.jp/>



【発売元】

株式会社 ケー・エー・シー

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

2019年10月作成

2025年6月改定