




Point Of Cell Assay

POCA シリーズ

-  ヒト小腸モデル
-  心筋分化毒性評価キット
-  ヒト3D皮膚モデル

【目次】

・医薬品／食品素材等のヒト小腸吸収評価 kit POCA <sup>®</sup> 小腸吸収 (CACO-2)	.....	P1・P2
・医薬品／農薬／化学薬品等の心筋分化毒性評価 kit POCA <sup>®</sup> Hand1-EST	.....	P3・P4
・医薬品／化粧品素材等の経皮吸収評価 kit POCA <sup>®</sup> ヒト 3D “HADA”	.....	P5・P6
・その他 皮膚細胞取扱い製品	.....	裏表紙

# POCA<sup>®</sup> 小腸吸収 (CACO-2)

## <製品概要>

CACO-2 細胞を Transwell プレートのインサート側に播種した状態でお届けする 小腸吸収評価用の細胞アッセイキットです。

### 【CACO-2】

上皮細胞様の形態をしており単層膜を形成し、小腸上皮モデルとして細胞透過性試験などに用いられている。

## 製品特長

- ☑ CACO-2 細胞に必要な煩雑な 21 日間の培養が不要
- ☑ オリジナルの CACO-2 細胞を使用しているためほぼ一定の品質

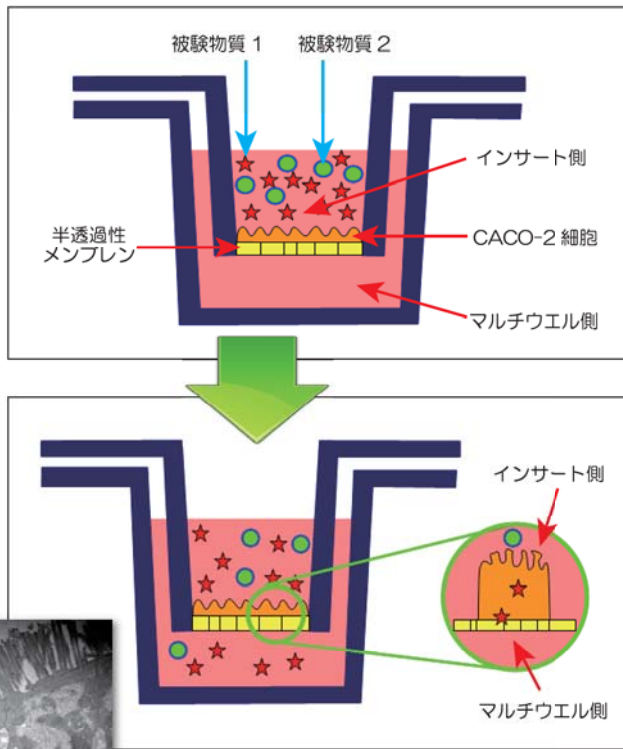


本キットは『ECACC (European Collection of Cell Culture)』の標準株細胞 CACO-2 (カタログ番号: EC86010202-GO) を材料に作製しております。



【コーニング社 24well Transwell (CatNo: 3413)】  
※ プレートタイプは選択可

## <被験物質 吸収評価時のイメージ図>



【Transwell プレート拡大写真】

## 【CACO-2 QC】

POCA 小腸吸収 (CACO-2)

- 細胞株種目: Caco2
- 培地交換日: Caco2 (ECACC カタログNo. EC86010202-F0 Lot.08B011 継代数: 44)
- 使用細胞: Caco2 (ECACC カタログNo. EC86010202-F0 Lot.08B011 継代数: 44)
- 接種細胞数:  $1.77 \times 10^4$  Cells/well

### 【Quality Control】

- 出荷前検査結果
- ・真菌: 陰性
- ・細菌: 陰性
- ・マイコプラズマ: 陰性
- ・膜抵抗値 【24well×1 両日測定】

1550	1390	1650	1620	1720	1620
1530	1410	1590	1640	1780	1600
1420	1440	1450	1670	1630	1620
1440	1430	1460	1690	1580	1630

培養 19 日目に膜抵抗値が規格内 (1000Ω以上) であることを確認後ヒートシールを施し、QC を添付して発送しております。

1580	1690	1520	1600	1560	1760
1560	1690	1520	1620	1540	1740
1620	1620	1550	1660	1720	1590
1630	1630	1520	1640	1720	1580

### 【Procedure for Handling Cultured Caco2】

1. 入荷しましたら、箱からプレートを取出し、アルコール綿で消毒してください。以下の操作は、無菌条件下で行なってください。
2. 蓋をシールしているテープを剥がしてください。
3. プレート内部のシールを剥がしてください。
4. 培地の漏れなどがありましたら、後引にて除去してください。
5. 37℃、5%炭酸ガスインキュベーター内で静置のうえ、ご使用ください。

## 【食品素材開発メーカー】

2015年4月から始まった「機能性表示食品制度」による食品素材の科学的根拠作り!

英国の公的細胞バンク (ECACC) の細胞を使用しているためスムーズな論文文化へ!

煩雑な CACO-2 細胞培養からの解放!



## 【医薬品開発メーカー】

P-gp, BCRP のトランスポーター発現と Lot 間差なしのデータ取得

英国の公的細胞バンク (ECACC) の細胞を使用しているため、一定品質

👉 詳細データは次ページ参照

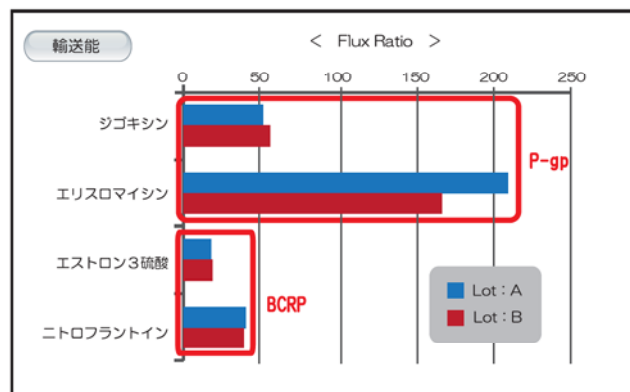
注文カタログ番号	品名	容量 (包装)	発送時温度	価格 (税別)
DSPOCA001-ZS	POCA <sup>®</sup> 小腸吸収 (CACO-2)	1 プレート *	室温	120,000 円
DSPOCA002-ZS	POCA <sup>®</sup> 小腸吸収 (CACO-2)	2 プレート *	室温	170,000 円
DSPOCA003-ZS	POCA <sup>®</sup> 小腸吸収 (CACO-2)	3 プレート *	室温	225,000 円
DSPOCA004-ZS	POCA <sup>®</sup> 小腸吸収 (CACO-2)	4 プレート *	室温	240,000 円

(\*プレートタイプ選択可、ただし 24well プレートの場合は 12well ずつを 2 枚に分けて発送)

**POCA 小腸吸収 (CACO-2) の細胞2ロットにおける2種トランスポーター『P-gp (MDR-1)』、『BCRP』\*の輸送能確認試験結果**

\* 体内のバリア組織に局在しており、糖、アミノ酸などの栄養物質やホルモンなどの生理活性物質を細胞外へ輸送（排出）するタンパク質である。  
Flux Ratio（透過速度比：インサート側→外側、外側→インサート側）が2.0以上の場合、P-gp、BCRPの基質と判定され、排出型トランスポーターが機能しております。

	基質	Flux Ratio	
		細胞Lot: A	細胞Lot: B
P-gp	ジゴキシン	51.4	56.1
	エリスロマイシン	208.9	166.7
BCRP	エストロン3硫酸	22.7	23.5
	ニトロフラントイン	41.7	41.1

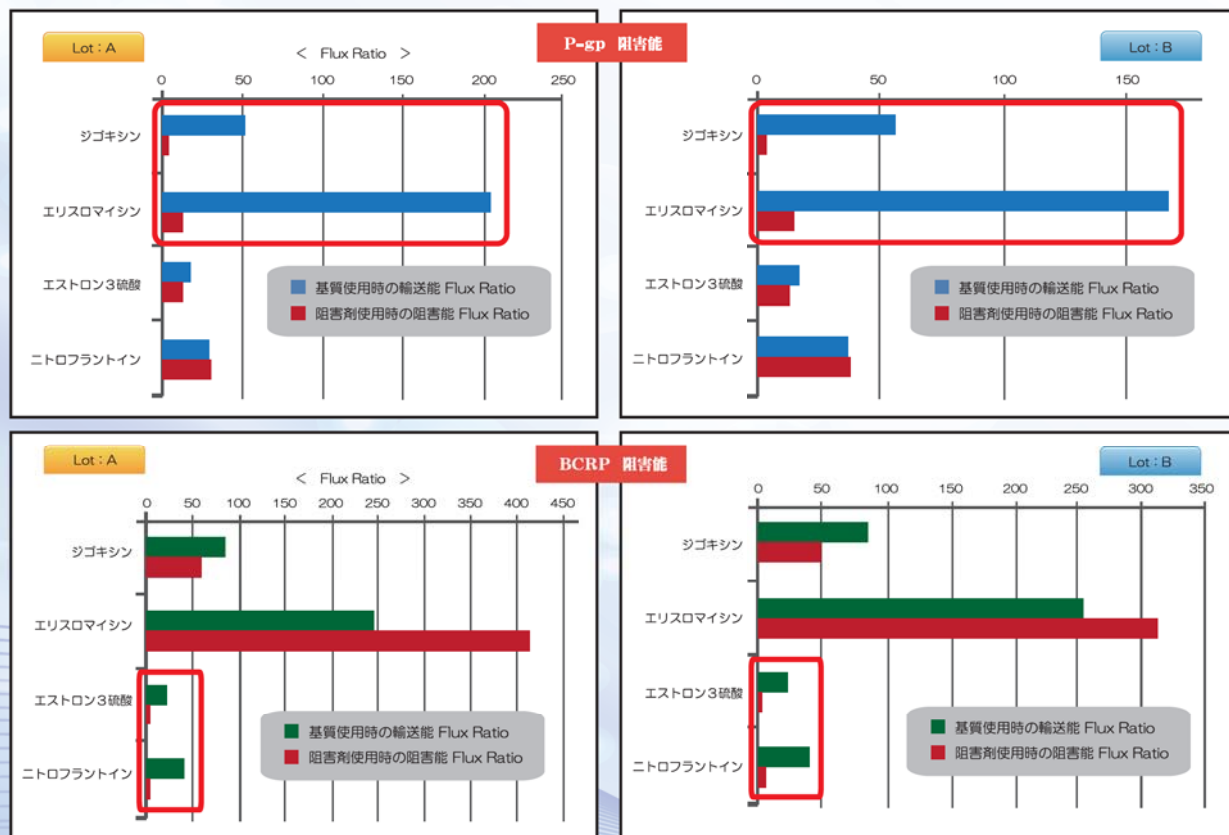


＜考察＞  
 ・P-gp、BCRPともに Flux Ratio は2以上あり発現していることを確認できた。  
 ・2ロットにおける大きなロット差も見受けられなかった。

**POCA 小腸吸収 (CACO-2) の細胞2ロットにおける『P-gp (MDR-1)』、『BCRP』の阻害能確認試験結果**

	阻害剤	基質	細胞Lot: A		細胞Lot: B	
			Flux Ratio	% of control	Flux Ratio	% of control
P-gp	PSC833	ジゴキシン	51.4→3.6	7.0	56.1→3.7	6.6
		エリスロマイシン	208.9→13.3	6.4	166.7→15.2	9.1
		エストロン3硫酸	18.0→13.4	74.4	17.3→13.4	77.5
		ニトロフラントイン	29.4→3.1	105.4	37.2→38.2	102.7
BCRP	Ko134	ジゴキシン	85.8→59.4	69.2	86.5→50.4	58.3
		エリスロマイシン	246.8→414.3	167.9	255.5→313.2	122.6
		エストロン3硫酸	22.7→3.5	15.4	23.5→3.0	12.8
		ニトロフラントイン	41.7→5.4	12.9	41.1→6.2	15.1

＜考察＞  
 ・P-gpの阻害剤 (PSC833) に対する基質2種 (ジゴキシン、エリスロマイシン) においてコントロールに対する Flux Ratio が50%以下、同じくBCRPの阻害剤 (Ko134) に対する基質2種 (エストロン3硫酸、ニトロフラントイン) においてコントロールに対する Flux Ratio が50%以下となり2種トランスポーターが発現機能していることが考察された。  
 ・Lot: A、Lot: B において同じような反応を示しLot間差がないことがうかがえた。



【評価系の確認 (アッセイ前)】

細胞膜抵抗値の確認  
 膜透過評価前に膜抵抗値 (TEER) を測定し単層膜形成の確認を実施しております。

【評価系の確認 (アッセイ後)】

Lucifer Yellow (LY) の透過性確認  
 LYはCACO-2細胞膜を通過しない事が知られております。基質透過評価後にインサート内溶液をLYに交換し、60分間透過を行い、細胞間タイトジャンクション形成維持の確認を実施しております。

## <製品概要>

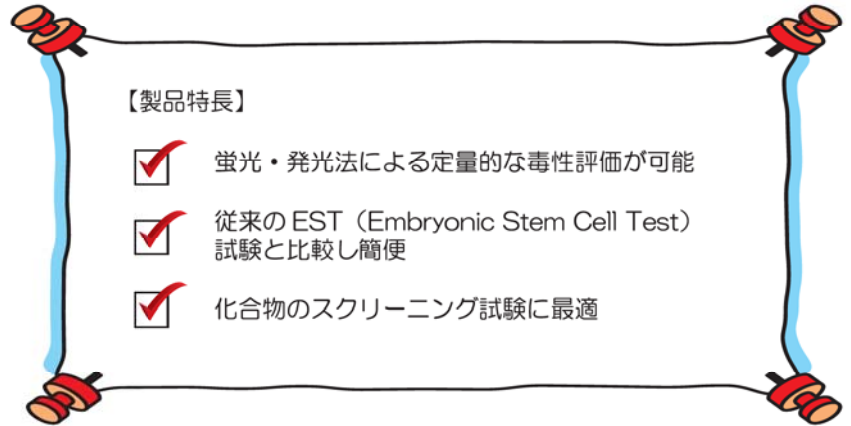
我々の身の回りには、工業製品、化粧品、農薬、医薬品などの多数の化学物質が存在する。現在、これらのヒトへの安全性を高精度に評価するために、多くの実験動物を用いた毒性試験が実施されている。安全性評価の中で生殖発生毒性試験が対象としている項目は、配偶子（精子、卵子）の形成および生殖機能（受胎、妊娠維持、分娩、哺育）ならびに次世代の発生および成長といった世代を越えた幅広いものである。特に、次世代（胎児）の形態的な異常を検出する催奇形性試験は生殖発生毒性試験の中で最も重要視されているが、多くの時間と動物による経費が問題視されている。

近年、動物福祉の観点から、動物細胞や微生物などを用いた in vitro 試験法は短期間に少量の化合物で評価できる簡便な試験法であり、化学物質の安全性評価の効率化に大きく寄与しグローバルに研究が進められている。

この度、マウス ES 細胞から心筋への分化過程における生細胞数と分化効率を、蛍光・発光量で測定する心筋分化毒性評価方法を住友化学が開発し、DS ファーマバイオメディカル株式会社よりキットとして販売するに至った。



※写真のホワイトプレートは別売です。



### 【製品特長】

- ✓ 蛍光・発光法による定量的な毒性評価が可能
- ✓ 従来の EST (Embryonic Stem Cell Test) 試験と比較し簡便
- ✓ 化合物のスクリーニング試験に最適

### 【キット構成】

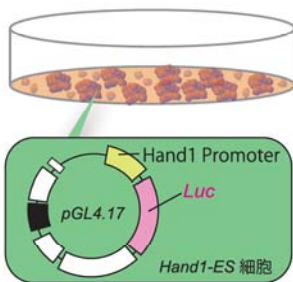
- Hand1-ES 細胞 (1 vial)
- 未分化維持培地 (1 本: 30mL)
- 心筋分化培地 (1 本: 200mL)
- データ解析ソフト (1 枚: CD-ROM)

評価物質と心筋分化培地を添加

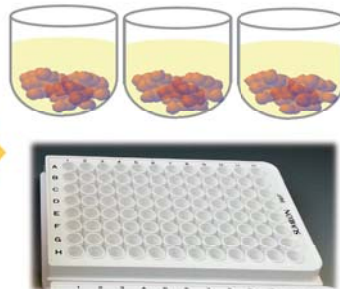


## 【アッセイ手順】

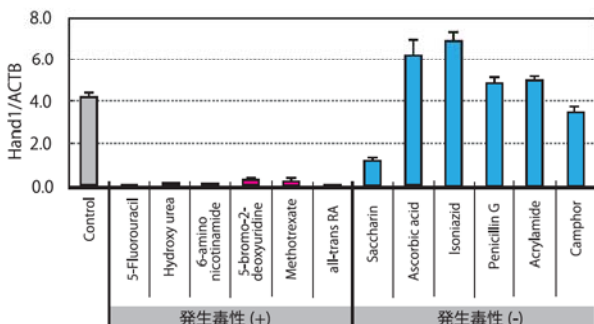
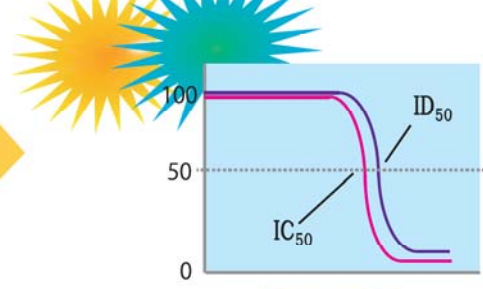
① Hand1-ES 細胞 (未分化) 培養



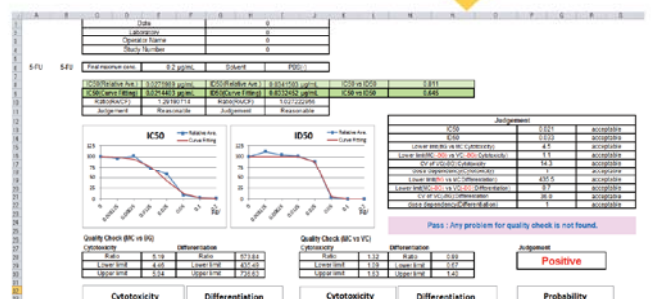
② 評価物質と心筋分化培地を添加し分化培養



③ 蛍光・発光法で IC50・ID50 を計算

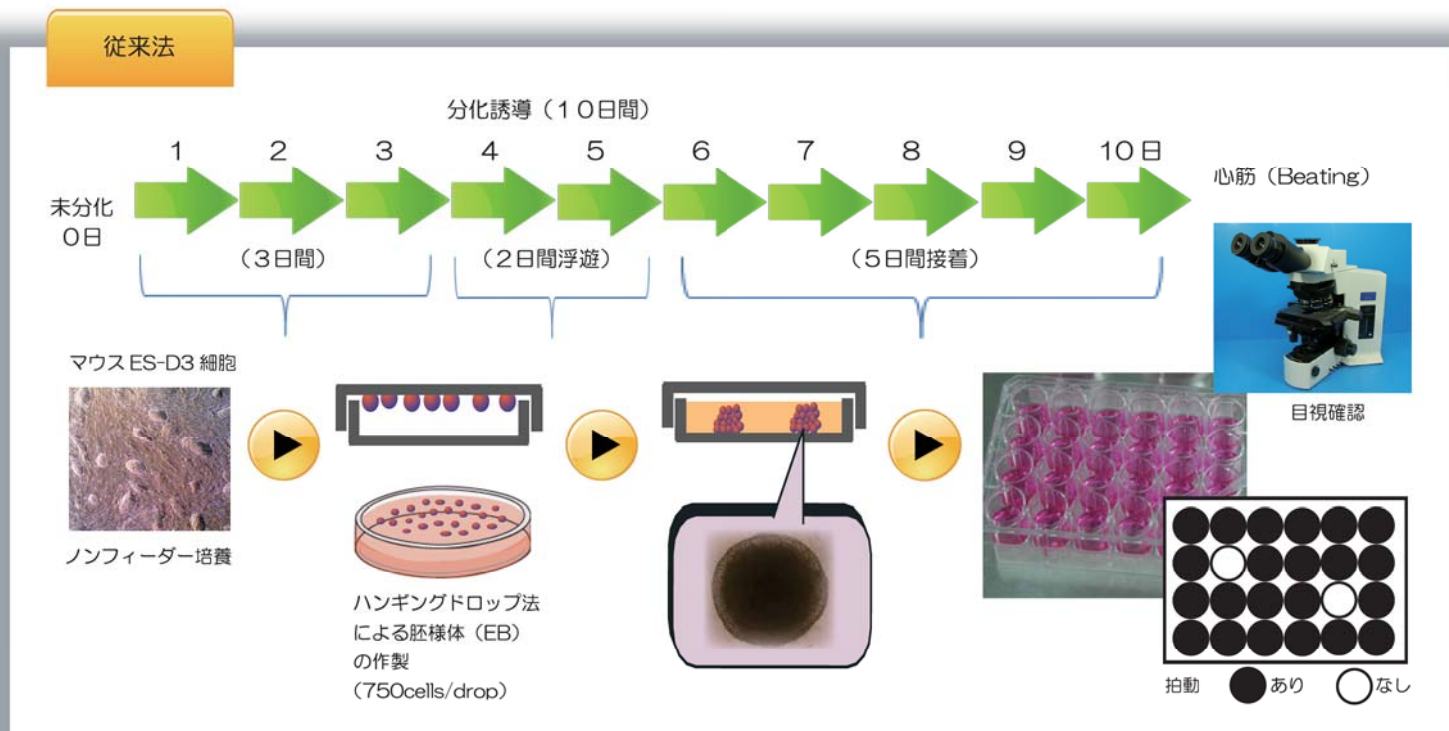


【毒性と Hand1 活性】



④ 心筋への分化効率より毒性評価

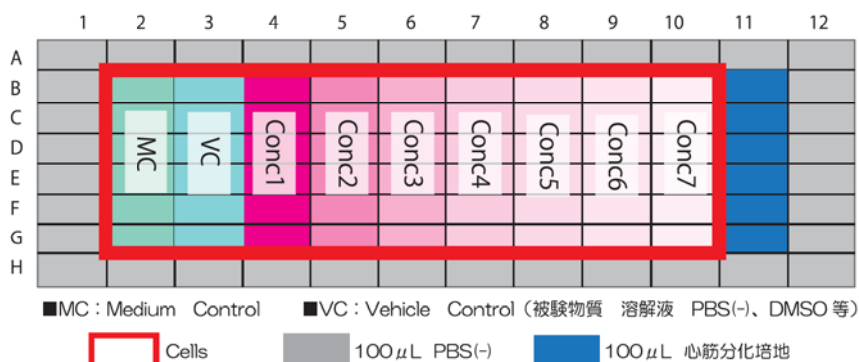
<従来法 (EST) との比較>



項目	EST (従来法)	Hand1-EST
試験日数	10日間	5日間
分化評価	拍動 (目視)	Luciferase 活性
必要化合物	500mg 以上	5 ~ 50mg
測定装置	顕微鏡 (目視)	蛍光・発光リーダー (定量)
処理能力	低	高

【プレートレイアウト】

1プレート : 1化合物 (N=6)



注文カタログ番号	品名	容量 (包装)	発送時温度	価格 (税別)
DSPOCAEST100	POCA® Hand1-EST 【キット構成】 ・ Hand1-ES 細胞 (1 vial) ・ 未分化維持培地 (30mL×1) ・ 心筋分化培地 (200mL×1) ・ 解析ソフト (CD-ROM×1)	1 kit	凍結 (ドライアイス)	お問い合わせ下さい*

\*本キットご使用に関しましては別途ライセンス契約が必要です。詳細については別途お問い合わせください。  
\*本キット中の Hand1-EST 細胞のご使用に際し Promega 社のライセンスプログラムをご確認頂く必要があります。ライセンスプログラムに関しては [www.promega.co.jp/license/](http://www.promega.co.jp/license/) をご覧ください。

# POCA<sup>®</sup> ヒト 3D “HADA”

High-performance and Advanced Dermal Assay model

## <製品概要>

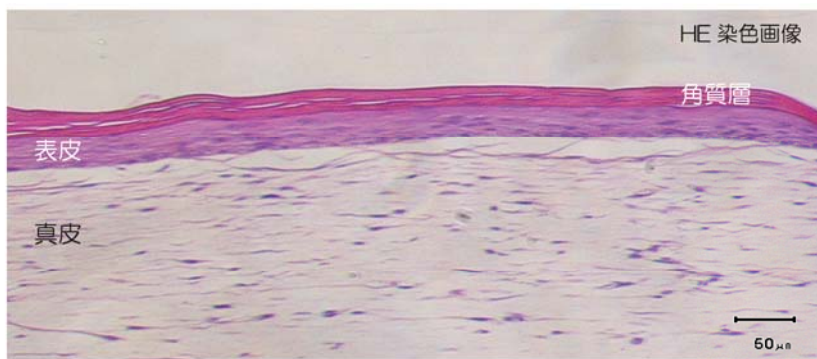
ヒトのケラチノサイト、ヒト幹細胞（Muse 細胞）から分化させたメラノサイト、ファイibroプラストを Transwell プレートのインサートカップ内に播種した状態でお届けするヒト 3D 皮膚モデルのアッセイキットです。

### 【Muse 細胞 とは】

\* Multilineage-differentiating Stress Enduring（長時間のストレスによる多分化能）の略

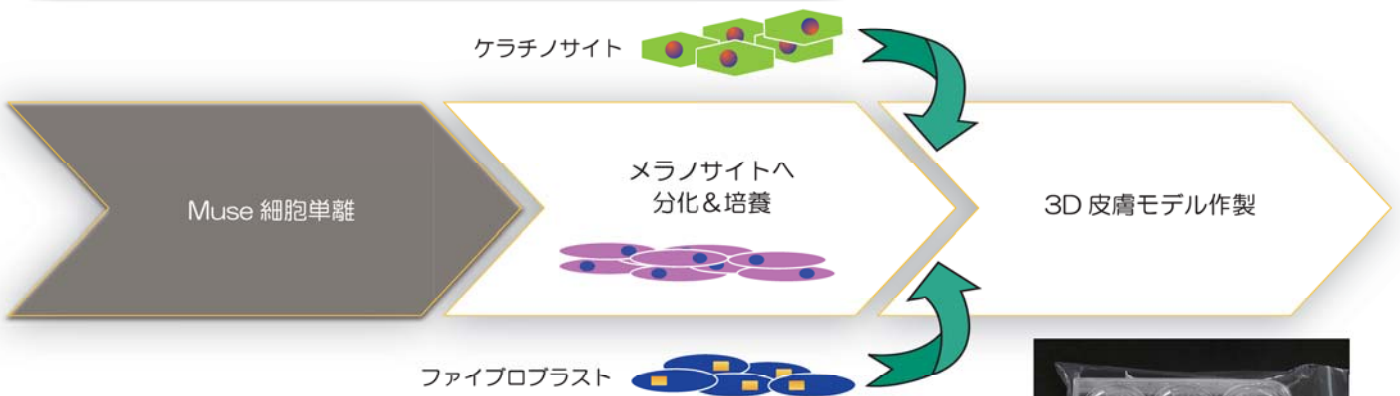
東北大学大学院医学系研究科 細胞組織学分野 人体構造学分野 出澤真理教授が発見した幹細胞で、新しいタイプの多能性幹細胞です。

骨髄、皮膚、脂肪などの間葉系組織にメインに存在し、1 細胞から体中の様々なタイプの細胞に分化可能で、自己複製機能も保持しています。体内に自然に存在する細胞であり、腫瘍化の危険が極めて低く、骨髄移植（0.03%）や間葉系幹細胞移植（～1%）に使用される細胞中にも含まれています。



### 【製品特長】

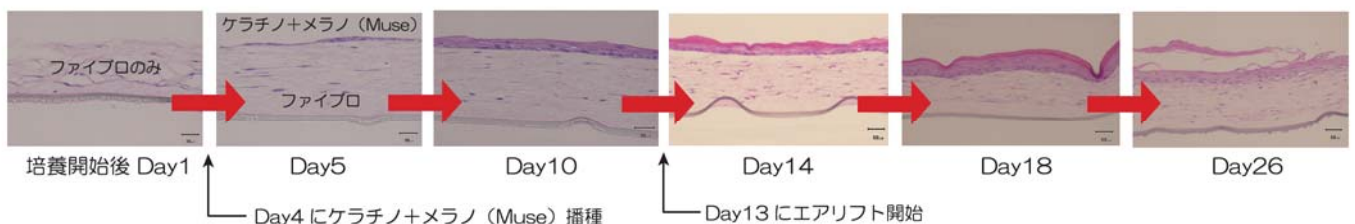
- 強いバリア機能保持
- ヒト皮膚に近い構造（角質層、表皮層、真皮層）



Muse 細胞を単離し、メラノサイトへ分化させた後、培養し増殖させます。右記プレートのインサートカップ内にファイibroプラストによる真皮層を構築させ、その後、約 17 日間かけ、分化培養したメラノサイトとケラチノサイトを共培養することにより 3D 皮膚モデルが完成致します。

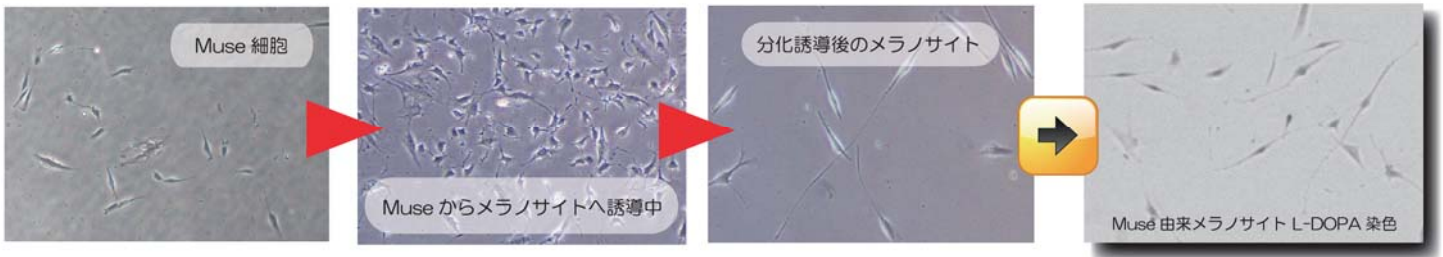


### 【3D 皮膚モデル作製過程の HE 画像】

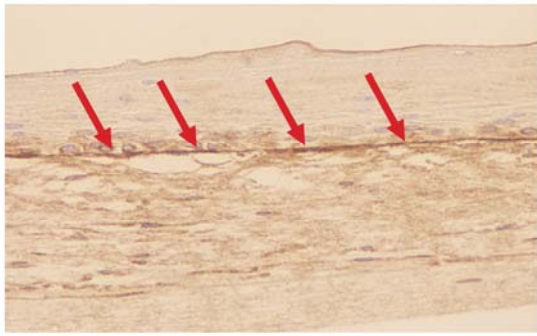


\* 製品は Day17 に出荷し、Day18 に到着後、約 10 日間の試験評価が可能です。

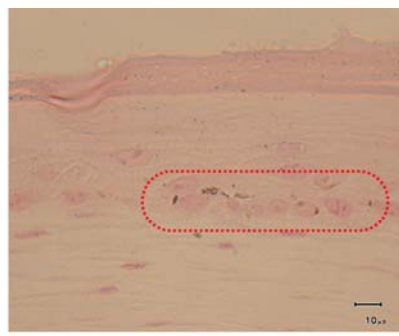
Muse 細胞から分化されたメラノサイトとL-DOPA 染色画像



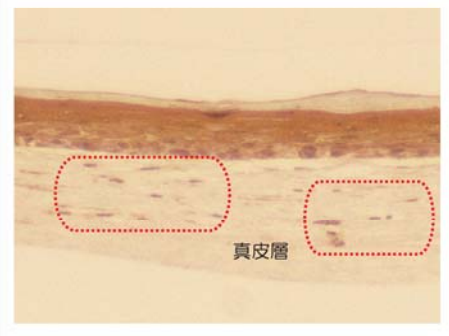
ラミニニン染色画像（基底膜）



フォンタナマッソン染色画像（メラニン）

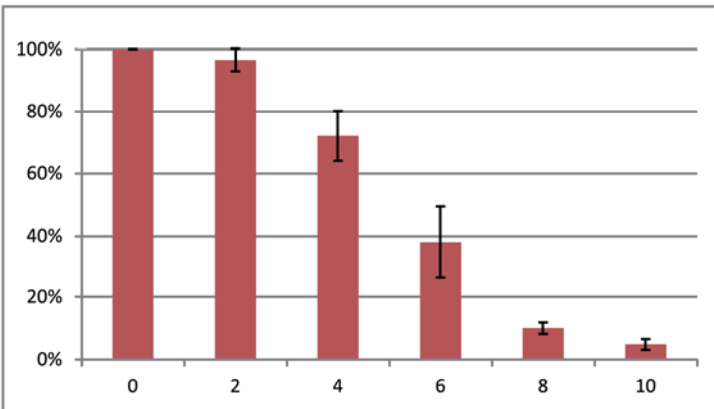


エラスチン染色画像（フィブロブラスト）



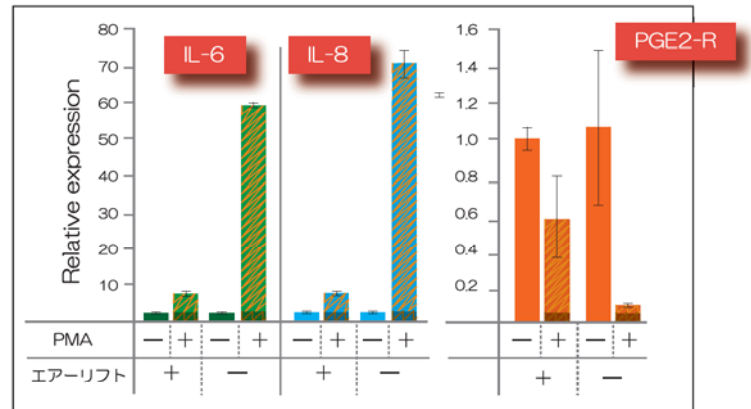
POCA ヒト 3D “HADA” のバリア機能評価

【SDS18 時間暴露後の細胞生存率】



IC50 は  $5.4 \pm 0.6$  mg/mL (N=7) であった。

【PMA によるサイトカインの応答性】



バリア機能を調べるために、エア-リフトで角質層が構成されているものと、されていないものを用い、 $20 \mu\text{M}$  の PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate) を『POCA ヒト 3D “HADA”』の表面に添加した。24 時間後、表皮までの細胞から RNA を抽出し定量 PCR を行い、IL-6、IL-8、PGE2-R の発現を測定した。

注文カタログ番号	品名	容量 (包装)	発送時温度	価格 (税別)
DSPOCA224F	POCA <sup>®</sup> ヒト 3D “HADA” (24well プレート)	24 カップ / 24well	室温	225,000 円
DSPOCA224H	POCA <sup>®</sup> ヒト 3D “HADA” (24well プレート)	12 カップ / 24well	室温	125,000 円
DSPOCA212F	POCA <sup>®</sup> ヒト 3D “HADA” (12well プレート)	12 カップ / 12well	室温	225,000 円
DSPOCA212H	POCA <sup>®</sup> ヒト 3D “HADA” (12well プレート)	6 カップ / 12well	室温	125,000 円
DSPOCA206F	POCA <sup>®</sup> ヒト 3D “HADA” (6well プレート)	6 カップ / 6well	室温	225,000 円

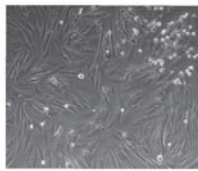
■POCA<sup>®</sup> ヒト 3D “HADA” 用培地

\*納期に関しては別途お問い合わせ下さい。

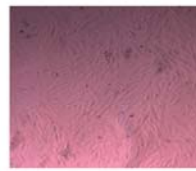
注文カタログ番号	品名	容量	発送時温度	価格 (税別)
DSDSM101	細胞メンテナンス用培地	220mL	凍結 (ドライアイス)	9,800 円

## 【皮膚関係細胞】

皮膚繊維芽細胞  
(ファibroプラスト)



成人由来  
新生児由来  
糖尿病患者由来  
乾癬患者由来

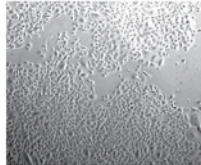


注文 Cat.No.	品名	保存	容量	価格(円・税別)
BBDFB	正常ヒト皮膚繊維芽細胞(成人)	液体窒素	1 vial (1x10 <sup>6</sup> cells)	80,000
BBDFNF	正常ヒト皮膚繊維芽細胞(新生児)	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	86,400
BBDFDF	正常ヒト皮膚繊維芽細胞(糖尿病患者)	液体窒素	1 vial (1x10 <sup>6</sup> cells)	136,800
BBDFFPS	正常ヒト皮膚繊維芽細胞(乾癬患者皮膚部)*	液体窒素	1 vial (1x10 <sup>6</sup> cells)	279,600

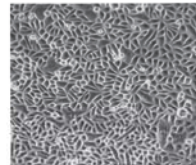
【適応培地】 皮膚繊維芽細胞培養用培地(注文 Cat.No.: BBDF1) 容量: 500mL 価格: 34,800 円

\*: 同一ドナーで無疹部の皮膚繊維芽細胞(BBDFB)もあります。ロット番号等は、お問い合わせください。

皮膚角化細胞  
(ケラチノサイト)



成人由来  
新生児由来  
糖尿病患者由来



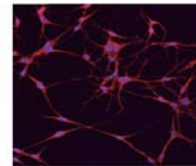
注文 Cat.No.	品名	保存	容量	価格(円・税別)
BBKRF	正常ヒト表皮角化細胞(成人)㉑	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	108,000
BBKRNf	正常ヒト表皮角化細胞(新生児)㉑	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	132,000
BBKRDF	正常ヒト表皮角化細胞(糖尿病患者)㉑	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	180,000

【適応培地】 正常ヒト表皮角化細胞用無血清培地(注文 Cat.No.: KBKJB200) 容量: 500mL 価格 18,000 円

色素細胞  
(メラノサイト)



成人由来  
新生児由来  
L-dopa conversion in  
adult melanocytes

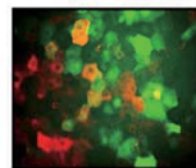
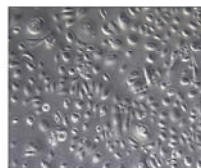


Mel-5 stained adult melanocytes

注文 Cat.No.	品名	保存	容量	価格(円・税別)
BBMELF	正常ヒトメラノサイト(成人)	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	165,000
BBMELFNEO	正常ヒトメラノサイト(新生児)	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	133,200

【適応培地】 メラノサイト培養用培地(注文 Cat.No.: BBMEL2) 容量: 500mL \*詳細はお問い合わせください。

皮脂腺細胞  
(セボサイト)



Keratin-7 (赤) and MUC-1 (緑) Staining

注文 Cat.No.	品名	保存	容量	価格(円・税別)
BBSEB	正常ヒト皮脂腺細胞	液体窒素	1 vial (5x10 <sup>5</sup> cells)	270,000

【適応培地】 皮脂腺細胞培養用培地(注文 Cat.No.: BBSEB1) 容量: 500mL 価格 68,400 円

●掲載の商品は、全て研究用試薬です。人や動物の医療用・臨床診断用等には使用しないでください。  
●掲載の価格は、2015年4月1日現在の価格です。予告なしに改定される場合がありますので、ご注文の際にご確認ください。

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](mailto:dspb-ls@bio.ds-pharma.co.jp)

POCAALL-1/1506DEN