



(Ver. 1.0)

Protocol: TEER (経内皮電気抵抗) 測定方法

1. 必要な装置・器具・試薬

• 経内皮電気抵抗 (TEER) 測定装置

EVOM2 (WPI社製) もしくは Millicell-ERS2 (Millipore社製)

• 電極 (カップ型)

EndOhm-6 (WPI社製, 24ウェル型BBB Kit™用)

EndOhm-12 (WPI社製, 12ウェル型BBB Kit™用)

*測定値の安定性の観点から、スティック型の電極 (STX100M by WPI) よりも、カップ型のEndOhmを用いた測定をお勧めしております。

• マイクロピペット (P1000, P5000) および滅菌済みチップ

• 先曲がりピンセット (先端に溝があり、滑りにくいものをお勧めします)

• 70 % エタノール (電極消毒用)

• 培養液 (血清不含のDMEM もしくは DMEM/F-12)

*BBB Kit™にはTEER測定用の培養液は添付されておりません。ユーザー様ご自身でご用意ください。抗生物質が含まれていても問題ありません。

2. 測定の流れ

1. 電気抵抗計の性能チェック → 2. 電極の消毒 → 3. 測定 → 4. 電極の洗浄

3. 電気抵抗計の性能チェック

1. **1000 Ω** の外部標準抵抗を電気抵抗計に接続します。
2. 測定項目を選択するレバーを **Ohm** 側に倒します。
3. 電気抵抗計の電源をONにします。このとき充電用のケーブルは本体から外しておいてください。ディスプレイに表示される数値が「1000 Ω (±5%)」であれば、抵抗計本体の機能に問題はありません。

4. 電極の消毒

1. 電極カップに70%エタノールを添加し、キャップ部分を本体にかぶせ、3～5分静置して消毒します。

注意: 長時間浸漬すると故障の原因となりますので、消毒時間を厳守してください。

EndOhm-6 (24ウェル型 RBT-24H / MBT-24H): 2.5 mL

EndOhm-12 (12ウェル型 RBE-12 / RBC-12) : 5 mL

2. 前項で添加したエタノールを電極カップから吸引除去します。培養液を2.5 mL (EndOhm-6、24ウェル型) もしくは5 mL (EndOhm-12、12ウェル型) 添加し、キャップ部分を本体にかぶせ、5分間静置します。

この間にBBB Kit™をCO₂インキュベーターより取り出し、コンタミネーション等を確認してください。確認後はクリーンベンチ内に移してください。



※本製品は研究用試薬です。人、動物への医療・臨床診断には使用しないようご注意ください。

2. 消毒用70%エタノールを電極カップから吸引除去します。
 カップ内に残ったエタノールを完全に除去するため、培養液を5 mL (EndOhm-12、12ウェル型) もしくは
 2.5 mL (EndOhm-6、24ウェル型) 添加し、キャップ部分を本体にかぶせ、5分間静置します。



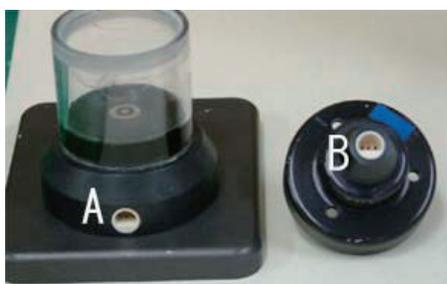
EndOhm-6 (24ウェル型BBB Kit™用)



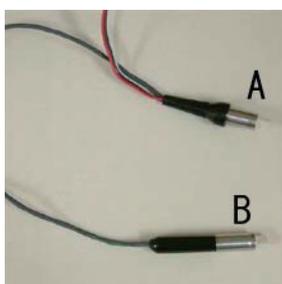
EndOhm-12 (12ウェル型BBB Kit™用)

3. 前項で添加した培養液を吸引除去し、あたらしい培養液を2.5 mL (EndOhm-12、12ウェル型) もしくは
 1 mL (EndOhm-6、24ウェル型) 添加し、キャップ部分を本体にかぶせます。

4. 電気抵抗計の電源がOFFになっていることを確認し、電気抵抗計本体と電極を添付のケーブルで写真のように接続
 します。電極接続端子は二股に分かれており、抵抗計本体と直接つながる「A」をカップ側に、「B」をキャップ側に接続し
 てください。



カップ型電極 (EndOhm)



接続端子AおよびB

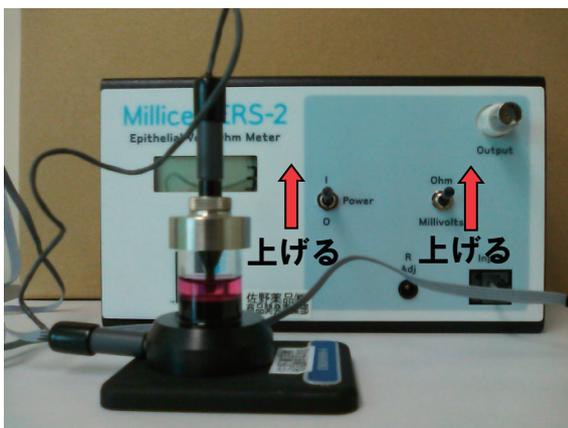


ケーブルを接続した電極

注意: 接続方法を間違えると、電気抵抗計に正しい値が表示されないのをご注意ください。

5. TEERの測定

1. 下の図の矢印のように電気抵抗計の電源を入れ、測定モードを「抵抗 (Ohm)」にセットします。



注意: 電源を入れると抵抗値が本体の液晶ディスプレイに表示されます。インサートを電極にセットしていない
 状態では、通常10 Ω以下ですが、電極の汚れがひどい場合には高値を示すことがあります。
 また、接続ケーブルが内部断線している場合には、表示される数値が高値を示したり、表示が不安定になります。

※本製品は研究用試薬です。人、動物への医療・臨床診断には使用しないようご注意ください。

2. BBB Kit™ インサートをピックアップし、電極カップに入れ、電極キャップをかぶせて測定します。

- ・インサートは斜めにならないようにまっすぐ置くようにしてください。
- ・電極キャップも傾かないように載せてください。
※24ウェル型の場合、電極の構造上キャップはしっかりととはまらず、やや不安定に載ります。
- ・電極とインサートの間に気泡が入らないように注意してください。
- ・インサート内部の培養液は交換せずに測定してください。
※血管側の培養液交換による刺激は内皮細胞のイオンチャンネルに影響し、タイトジャンクション機能とは関係なくTEERが低下します。
- ・液晶ディスプレイに表示される値の変化が緩やかになった時点の値を電気抵抗値として記録してください。
- ・インサート出し入れの際に、他の器具等への接触や、インサートを落としたりしないように注意してください。



24ウェル型 BBB Kit™ (RBT-24H / MBT-24H)



12ウェル型 BBB Kit™ (RBE-12 / RBC-12)



6. 洗浄

電極内の培養液を吸引除去し、3回ほど蒸留水ですすいで洗浄します。接続端子に水が入らないように注意してください。洗浄後はサービスタオル等の上で自然乾燥します。乾燥させる際には、キャップの電極がキムタオル等に接しないように上向きに置いてください。電極の先端は破損しやすいため、注意してお取扱いください。

- 注意:**
1. 洗剤や水道水を使用しないでください。また、スポンジ等で内部をこすらないでください。
 2. 電極をUV下に置かないでください。チャンバーに亀裂が入る恐れがあります。
 3. 電極をオートクレーブや乾熱滅菌にかけないでください。

7. TEERの計算

単位面積抵抗

単位面積抵抗は電気抵抗計に表示される値にフィルター膜の有効膜面積を掛け合わせることで得られ、「 $\Omega \times \text{cm}^2$ (単位面積抵抗)」と表記いたします。

BBB Kit™ のTEERを測定する際に電気抵抗計に表示される値には、「インサートのフィルターのみ抵抗値」も含まれていますので、経内皮細胞電気抵抗 (TEER) を算出するためにはBBB Kit™ のインサートを測定した値からブランク抵抗を差し引いて求められます。

24ウェル型 BBB Kit™ (RBT-24H / MBT-24H) のTEER計算方法

24ウェル型 BBB Kit™ (RBT-24H / MBT-24H) のインサート有効面積は **0.33 cm²** です。

$$R (\text{内皮細胞抵抗: } \Omega \times \text{cm}^2) = \{R (\text{全抵抗}) - R (\text{ブランク抵抗})\} \times 0.33$$

12ウェル型 BBB Kit™ (RBE-12 / RBC-12) のTEER計算方法

12ウェル型 BBB Kit™ (RBE-12 / RBC-12) のインサート有効面積は **1.12 cm²** で、1 cm²と覚えていただいで結構です。

$$R (\text{内皮細胞抵抗: } \Omega \times \text{cm}^2) = \{R (\text{全抵抗}) - R (\text{ブランク抵抗})\}$$

R (ブランク抵抗): 細胞を播種していない状態のインサートを測定し、電気抵抗計の液晶に表示される値
R (全抵抗): BBB Kit™ のインサートを測定し、電気抵抗計の液晶に表示される値

※本製品は研究用試薬です。人、動物への医療・臨床診断には使用しないようご注意ください。