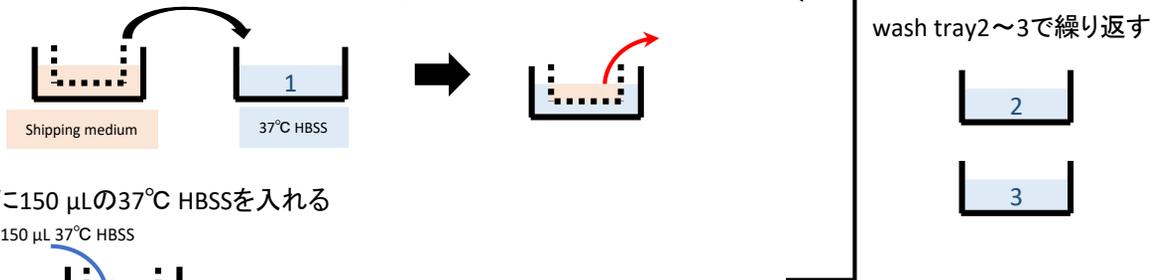


## Uptake ~ Apical

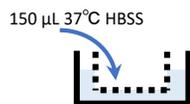
## i) Wash&amp;pre-incubate

 25 mLの37°C HBSSが入ったwash trayを3枚用意する

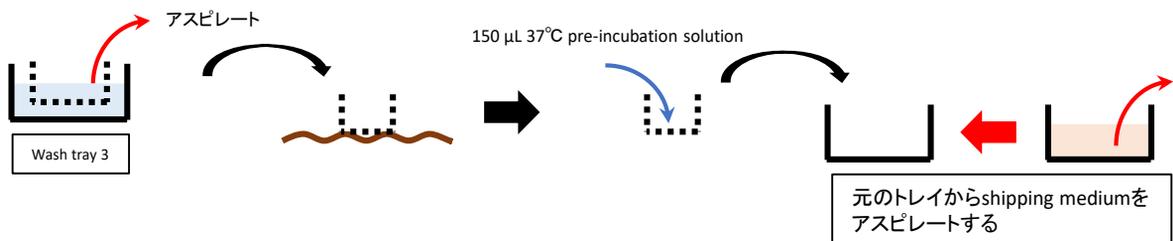
① insertをwash trayに移し、insertからshipping mediumをアスピレートする



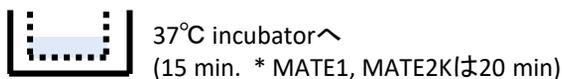
② insertに150  $\mu$ Lの37°C HBSSを入れる



③ insertのwash bufferをアスピレートしinsertの底部を拭いた後、150  $\mu$ Lのpre-incubation solutionを入れて空のトレイへ移す

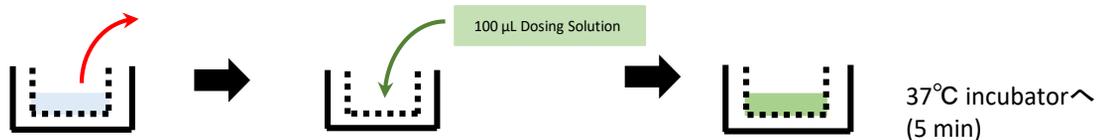


④ Pre-incubate



## ii) Assay

insertからpre-incubation solutionをアスピレートし、Dosing Solutionを入れる  
(\* MATE1, MATE2Kは100  $\mu$ Lの37°C HBSSで1回washした後にDosing Soltionを入れる)



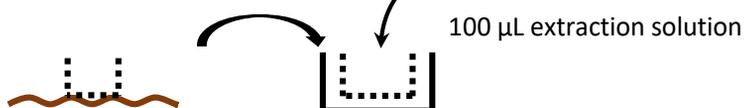
## iii) Stop&amp;wash

 25 mLのcold PBSが入ったwash trayを4枚用意する

① i) Wash&Pre-incubateの①～③の操作を行う。\* Cold PBSを使用 (wash tray 1～4)



② wash後、insertの底部を拭き、空のbottom plateへ移す



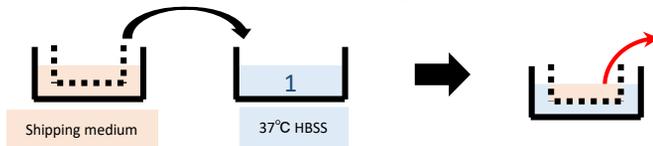
## Uptake ~ Basal

## i) Wash&amp;pre-incubate

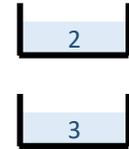
 25 mLの37°C HBSSが入ったwash trayを3枚用意する

\* 25 mLよりも多いと、この後の操作においてコンタミネーションの原因となりますのでできるだけ正確に入れてください

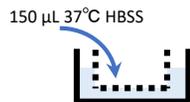
① insertをwash trayに移し、insertからshipping mediumをアスピレートする



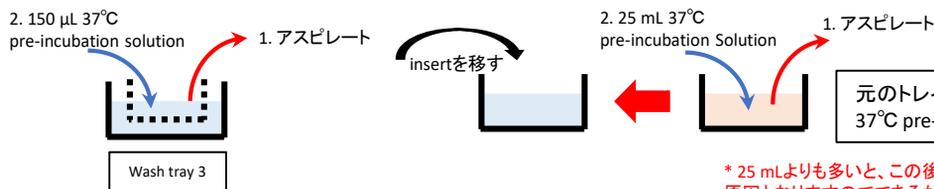
wash tray 2~3で繰り返す



② insertに150  $\mu$ Lの37°C HBSSを入れる



③ insertのwash bufferをアスピレートし、37°CのPre-incubation solutionを150  $\mu$ L入れ、37°Cのpre-incubation solutionを加えた元のプレートに移す



元のトレイからshipping mediumをアスピレートし、37°C pre-incubation solutionを25 mL加える

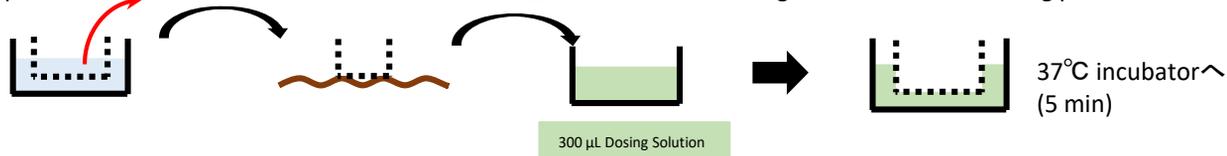
\* 25 mLよりも多いと、この後の操作においてコンタミネーションの原因となりますのでできるだけ正確に入れてください

④ Pre-incubate



## ii) Assay

insertからpre-incubation solutionをアスピレートしinsertの底部を拭いた後、Dosing Solutionが入ったdosing plateへ移す



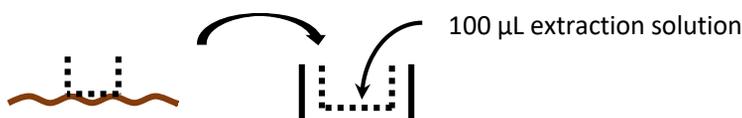
## iii) Stop&amp;wash

 25 mLのcold PBSが入ったwash trayを4枚用意する

① insertの底部を拭いた後、i) Wash&Pre-incubateの①~③の操作を行う。\* Cold PBSを使用 (wash tray 1~4)



② wash後、insertの底部を拭き、空のbottom plateへ移す



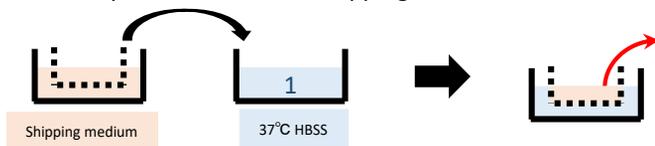
## i) Wash&amp;pre-incubate



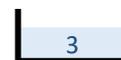
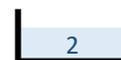
25 mLの37°C HBSSが入ったwash trayを3枚用意する

\* 25 mLよりも多いと、この後の操作においてコンタミネーションの原因となりますのでできるだけ正確に入れてください

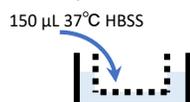
① insertをwash trayに移し、insertからshipping mediumをアスピレートする



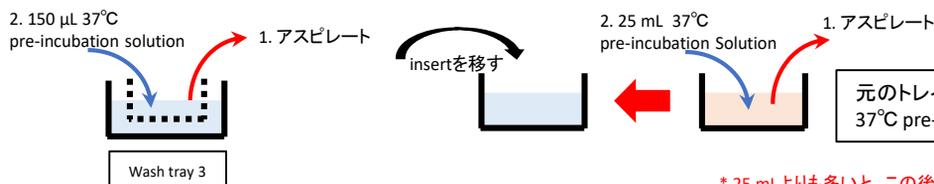
wash tray2~3で繰り返す



② insertに150  $\mu$ Lの37°C HBSSを入れる



③ insertのwash bufferをアスピレートし、37°CのPre-incubation solutionを150  $\mu$ L入れ、37°Cのpre-incubation solutionを加えた元のプレートに移す



元のトレイからshipping mediumをアスピレートし、37°C pre-incubation solutionを25 mL加える

\* 25 mLよりも多いと、この後の操作においてコンタミネーションの原因となりますのでできるだけ正確に入れてください

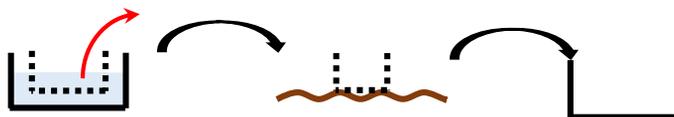
④ Pre-incubate



37°C incubatorへ  
(30 min)

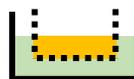
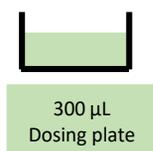
## ii) Assay

① insertからpre-incubation solutionをアスピレートしinsertの底部を拭いた後、空のトレイへ移す



② insertに150  $\mu$ Lのapical receiving solutionを入れ、300  $\mu$ Lのdosing solutionが入ったdosing plateへ移す。

150  $\mu$ L Apical receiving solution



37°C incubatorへ  
(90 min)

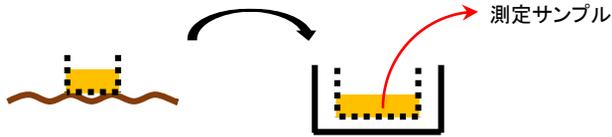
\* Insertを重ねる時は角から順番に入れていくと気泡が入りにくいです  
\* 万が一、気泡が入ってしまったてもやり直す事はないでください。コンタミネーションの原因となります。  
\* 気泡が入った場合にはプレートの上に重たいものをのせて気泡を端に寄せてください

## iii) Stop&amp;wash

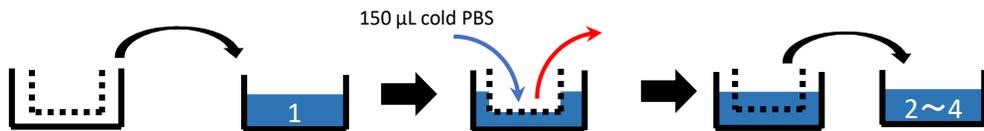


25 mLのcold PBSが入ったwash trayを4枚用意する

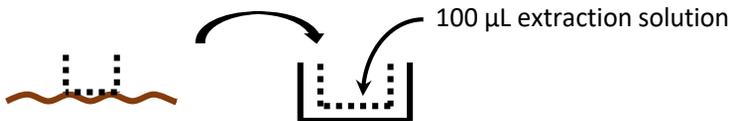
① insertの底部を拭いた後、空のトレイに移し、素早くinsertのapical receiving solutionを回収する



② i) Wash&Pre-incubateの①～③の操作を行う。 \* Cold PBSを使用 (wash tray 1～4)



③ wash後、insertの底部を拭き、空のbottom plateへ移す



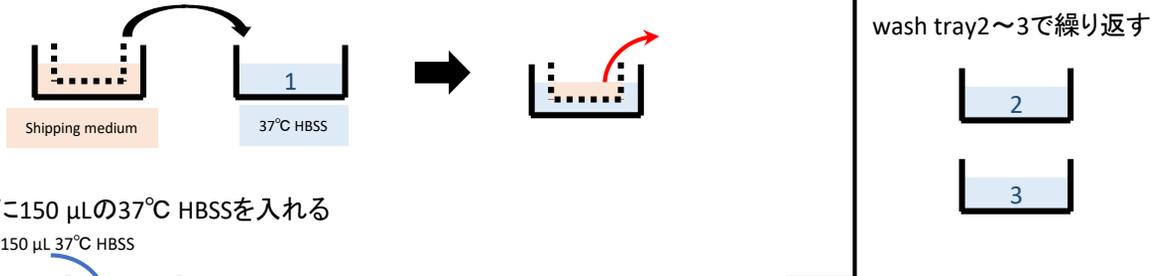
Option: Basal plateからサンプリングしてMass Balanceを求めることも可能です。

## i) Wash&amp;pre-incubate

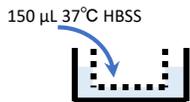
 25 mLの37°C HBSSが入ったwash trayを3枚用意する

\* 25 mLよりも多いと、この後の操作においてコンタミネーションの原因となりますのでできるだけ正確に入れてください

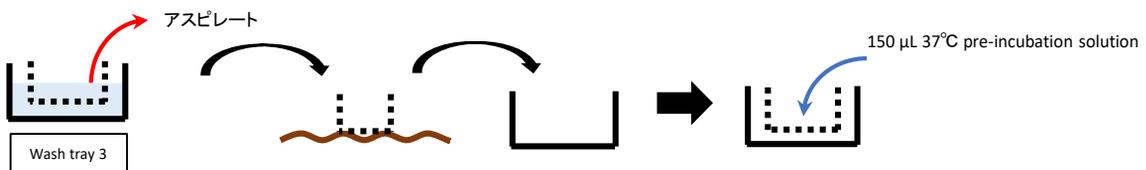
① insertをwash trayに移し、insertからshipping mediumをアスピレートする



② insertに150  $\mu$ Lの37°C HBSSを入れる



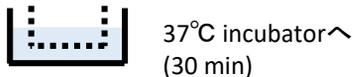
③ insertのwash bufferをアスピレートしinsertの底部を拭いた後、空のトレイに移し、150  $\mu$ Lのpre-incubation solutionを入れる



④ insertを300  $\mu$ Lのpre-incubation solutionを入れたbasal plateに重ねる



⑤ Pre-incubate



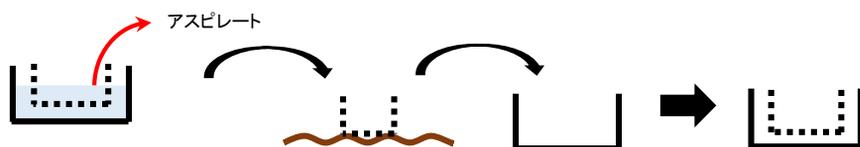
\* Insertを重ねる時は角から順番に入れていくと気泡が入りにくいです

\* 万が一、気泡が入ってしまったてもやり直す事はしないでください。コンタミネーションの原因となります

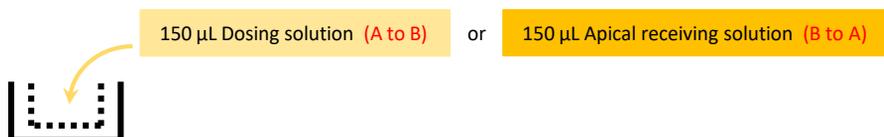
\* 気泡が入った場合にはプレートの上に乗たいものをのせて気泡を端に寄せてください

## ii) Assay

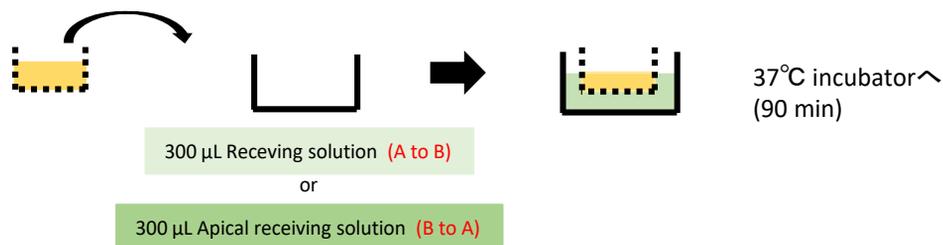
- ① insertのpre-incubation solutionをアスピレートしinsertの底部を拭いた後、空のトレイに移す



- ② insertに150  $\mu$ Lのdosing solution (AtoB), apical receiving solution (BtoA) を加える



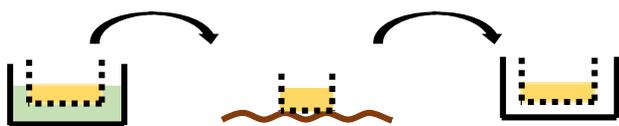
- ③ 300  $\mu$ Lのreceiving solution (AtoB), dosing solution (BtoA) を入れたdosing plateにinsertを移す



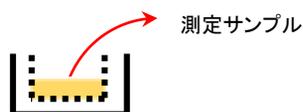
- \* Insertを重ねる時は角から順番に入れていくと気泡が入りにくいです
- \* 万が一、気泡が入ってしまったてもやり直す事はしないでください。コンタミネーションの原因となります
- \* 気泡が入った場合にはプレートの上に重たいものをのせて気泡を端に寄せてください

## iii) Stop

- ① insertの底部を拭き、空のトレイへ移す



- ② insertのapical receiving solutionを回収する。(B to A)



- ③ basal plateのreceiving solutionを回収する。(A to B)

