



Amyloid Fluorescent Staining Kit

Cat. No. CSR-SYN02

Updated on March 18th, 2020

※ RIKEN (Japan)'s technology is used in Amyloid Fluorescent Staining Kit

【 I 】 Kit Components

www.cosmobiousa.com

Storage: 4°C

● component: This kit can be used up to 100 tests when used as described in below 【 III 】

Component	Size	Quantity	Note
Amyloid fluorescent staining reagent	100 µL	1	Keep in a cool dark place once unpacked.
Nuclear staining reagent	100 µL	1	Use appropriate protective equipment (such as gloves and glasses) when handling. Keep in a cool dark place once unpacked.
Fluorescence enhancer	5 g	1	Use appropriate protective equipment (such as gloves and glasses) when handling. Keep at room temperature.

Required but not provided:

- 50% ethanol
- PBS(-)
- Purified water
- 10% neutral buffered formalin

【 II 】 Preparation of working solutions

- Amyloid fluorescent staining solution: Dilute 200 fold with 50% ethanol (Just before use)
- Nuclear staining solution: Dilute 500 fold with PBS(-) (Just before use)
- Fluorescence enhancer: Into 10 mL purified water, dilute 1g of Fluorescence enhancer, vortex thoroughly (Please prepare necessary amount). Since fluorescence enhancer will not dissolve completely & precipitate, use the supernatant of saturated solution.

【 III 】 How to use the kit

- Below example is for using α -Synuclein Aggregation Assay Kit (Cosmo Bio, cat. no. CSR-SYN01-COS) for 24 well plate size.
1. Assay as described in α -Synuclein Aggregation Assay Kit (Cosmo Bio, cat. no. CSR-SYN01-COS) manual.
 2. Remove culture medium, add 0.5 mL 10% Neutral buffered formalin to each well, leave it at least overnight at room temperature to fix cells.
 3. Remove formalin solution, add diluted 0.2 mL Amyloid structure fluorescent staining solution to each well, incubate at room temperature for 30 min. with protection from light (still standing).
 4. Remove Amyloid structure fluorescent staining solution, add 0.3 mL Fluorescence enhancer solution to each well, incubate at room temperature for 5 min. with protection from light (still standing).



5. Remove Fluorescence enhancer solution, add 0.5 mL 50% Ethanol to each well, wash once with PBS(-).
6. Add 0.2 mL Nuclear staining solution to each well, incubate 10 min. at room temperature with protection from light (still standing).
7. Remove Nuclear staining solution, wash once with PBS(-), followed by Fluorescence microscope observation. If high background, repeat wash with PBS(-).
Fluorescence property of each solution is follow.
Nuclear staining solution: λ ex = 352 nm, λ em = 461 nm
Amyloid structure fluorescent staining solution: λ ex = 390 nm, λ em = 511 nm

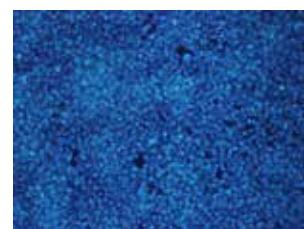
【IV】 Detection example of α – Synuclein aggregation complex

α -Synuclein Aggregation Assay Kit (Cosmo Bio, cat. no. CSR-SYN01) was assayed using SH-SY5Y cell line, followed by Amyloid Fluorescent staining with the same kit.

Negative control vector (pCMV-NC)



Phase difference



Nuclear staining

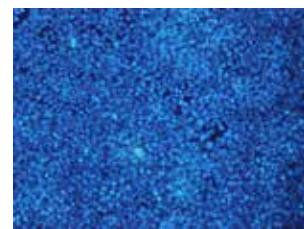


Synuclein aggregate

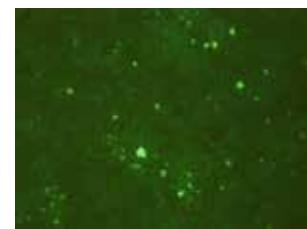
α -Synuclein introduction (pCMV-SNCA+ F- α Syn)



Phase difference



Nuclear staining



Synuclein aggregate

【V】 Related products

Description	Cat. No.	Quantity
α -Synuclein Aggregation Assay Kit	CSR-SYN01	1 kit (300 test)
α -Synuclein Fibrils	CSR-SYN03	0.1 MG
Human α -Synuclein, Recombinant, E.coli	CSR-SYN04	0.1 MG / 1 MG
Mouse α -Synuclein Fibrils	CSR-SYN05	1 MG
Mouse α -Synuclein, Recombinant, E.coli	CSR-SYN06	0.1 MG / 1 MG



COSMO BIO Co., LTD.

【JAPAN】

TOYO EKIMAE BLDG. 2-20, TOYO 2-CHOME,
KOTO-KU, TOKYO 135-0016, JAPAN
Phone: +81-3-5632-9610
FAX: +81-3-5632-9619
URL: <https://www.cosmobio.co.jp/>



COSMO BIO USA

【Outside Japan】

2792 Loker Ave West, Suite 101
Carlsbad, CA 92010, USA
email: info@cosmobiousa.com
URL: www.cosmobiousa.com
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600



一般研究用キット

Amyloid Fluorescent Staining Kit

アミロイド構造蛍光染色キット

Cat. No. SYN02

※本製品は国立研究開発法人 理化学研究所の技術が利用されています。

2024年10月1日作成

www.cosmobio.co.jp

【I】キット構成品

保存温度：4°C

● 内容量：【III】の使用方法で実施した場合、100 test 分となります。

内 容	容 量	数 量	取扱上の注意
アミロイド構造 蛍光染色液	100 μL	1 本	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。 開封後は遮光・冷蔵にて保管してください。
核染色液	100 μL	1 本	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。 開封後は遮光・冷蔵にて保管してください。
蛍光増強剤	5 g	1 本	取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。 開封後は常温・暗所で保管してください。

ご準備いただくもの（その他必要なもの）

- 50% エタノール
- PBS(-)
- 精製水
- 10% 中性緩衝ホルマリン

【II】試薬の事前調製

- 核染色液：PBS(-) で 500 倍希釈します（用時調製）。
- アミロイド構造蛍光染色液：50% エタノールで 200 倍希釈します（用時調製）。
- 蛍光増強剤：蛍光増強剤 1 g に対して精製水を 10 mL の割合で加えてボルテックスで攪拌します。
蛍光増強剤は完全には溶解せず沈殿するため、上清の飽和溶液を使用します（用時調製）。

【III】キットの使用方法

● 以下は 24 ウェルプレートを用いて、 α -シヌクレイン凝集アッセイキット（コスモ・バイオ 品番 SYN01）を使用した実験例です。

- #SYN01 のマニュアルに従ってアッセイします。
- 培養液を除去し、10% 中性緩衝ホルマリンを各ウェル 0.5 mL 加えて一晩以上細胞を固定します。
- ホルマリンを除去し、希釈調製したアミロイド構造染色液を各ウェル 0.2 mL 添加し、遮光して常温で 30 分間静置します。
- アミロイド構造蛍光染色液を除去し、蛍光増強剤飽和溶液を各ウェル 0.3 mL 添加し、遮光して常温で 5 分間静置します。
- 蛍光増強剤飽和溶液を除去し、各ウェル 0.5 mL の 50% エタノール、続いて PBS (-) で各 1 回洗浄します。
- 希釈調製した核染色液を各ウェル 0.2 mL 添加し、遮光して常温で 10 分間静置します。
- 核染色液を除去し、PBS (-) で洗浄して蛍光顕微鏡観察を行ってください。バックグラウンドが高い場合は PBS(-) による洗浄回数を増やしてください。蛍光特性は核染色液： $\lambda_{ex} = 352 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 461 \text{ nm}$ 、アミロイド構造蛍光染色液： $\lambda_{ex} = 390 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 511 \text{ nm}$ です。

本品は、研究目的にのみご使用ください。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないでください。
本マニュアルをご精読のうえ、研究目的にのみご使用ください。

Amyloid Fluorescent Staining Kit

—アミロイド構造蛍光染色キット—

Cat. No. SYN02

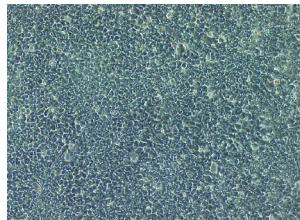


【IV】シヌクレイン凝集体の検出実験例

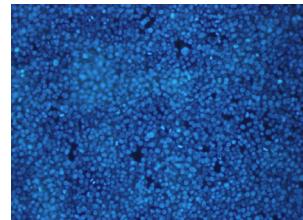
www.cosmobio.co.jp

α - シヌクレイン凝集アッセイキット（コスモ・バイオ：品番 SYN01）を用いて、SH-SY5Y 細胞でアッセイした後、本キットで染色した。

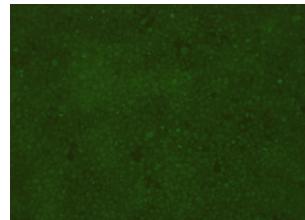
ネガティブコントロールベクター (pCMV-NC)



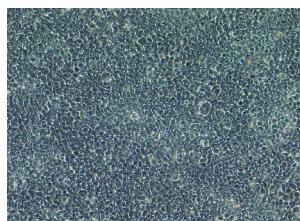
位相差



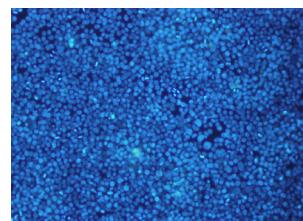
核染色



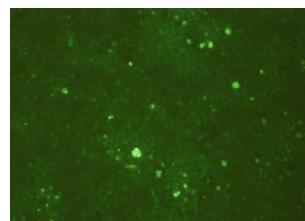
シヌクレイン凝集体

 α -シヌクレイン導入 (pCMV-SNCA+ F- α Syn)

位相差



核染色



シヌクレイン凝集体

【V】関連商品

メーカー略号：CSR

品番	品名	内容量
SYN01	α - シヌクレイン凝集アッセイキット	1 Kit
SYN03	α - シヌクレイン線維化タンパク質 (ヒト型)	0.1 MG
SYN04	α - シヌクレインリコンビナントタンパク質 (ヒト型)	0.1 MG / 1 MG
SYN05	α - シヌクレイン線維化タンパク質 (マウス型)	0.1 MG
SYN06	α - シヌクレインリコンビナントタンパク質 (マウス型)	0.1 MG / 1 MG

12391

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

— 商品の価格・在庫・納期に関するお問い合わせ —————

TEL: 03-5632-9630 (受付時間 9:00 ~ 17:30)

FAX: 03-5632-9623

— 商品に関するお問い合わせ —————

TEL: 03-5632-9610 (受付時間 9:00 ~ 17:30)

FAX: 03-5632-9619

本社所在地 〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル