COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

For research use only. Not for clinical diagnosis.

Lipid Assay Kit

Code No. AK09F

September 28, 2023

Description

Oil red O stain is one of the methods for determination of differentiation in adipocyte. Oil red O, the oilphilic red dye, stains intracellular oil droplet. This lipid assay kit, consisting of cell fixative and oil red O solution, is used to stain the accumulated oil in adipocyte. Furthermore, this kit is able to quantify amount of oil with organic solvent extraction method.

Components/Storage

Component	Quantity	Storage
Oil red O solution	150 mL×2	room temperature
Solvent for Oil red O extraction	200 mL×2	room temperature

One kit contains regents for 30 × 24well plates

Materials required but not provided

・10% formalin or fixation

Preparation of reagents

・fixative solution

37 % formaldehyde	100 ml
Distilled or deionized water	900 ml
NaH2PO4(H2O)	4 g
Na2HPO4	6.5 g

・Oil red O working solution

1. Mix Oil red O solution and distilled water in the proportion of six to four and leave it for 10~15 minutes at room temperature.
2. Filtrate Oil red O working solution by 0.5~1.0μm syringe filter.

Note: The working solution is stable for no longer than 2 hours. The solution containing crystallized Oil red O cannot be used.

Protocols (24-well plate format)

1. Remove culture medium and wash each well once with 500 μL of PBS.
2. Add 500μL of Fixative to each well, fix it over night at room temperature.
3. After the fixation, wash each well three times with 500μL of distilled water.
4. Add 500μL of Oil red O solution to each well and leave at least for 15min in room temperature.
5. Remove Oil red O solution, wash each well three times with distilled water. Repeat until the distilled water is perfect clean.
6. Dry it and observe. In addition, add 500μL of extraction reagent to each well, measure dye extraction (540 nm) by spectrophotometer or plate reader.

APPLICATION EXAMPLE

Viceral adipocytes (PMC-VAC01-COS) were stained by Lipid Assay Kit.

Viceral adipocytes were stained with Oil red O solution (Figure 1), and then dye extractions were measured by spectrophotometer (540 nm) (Figure 2).

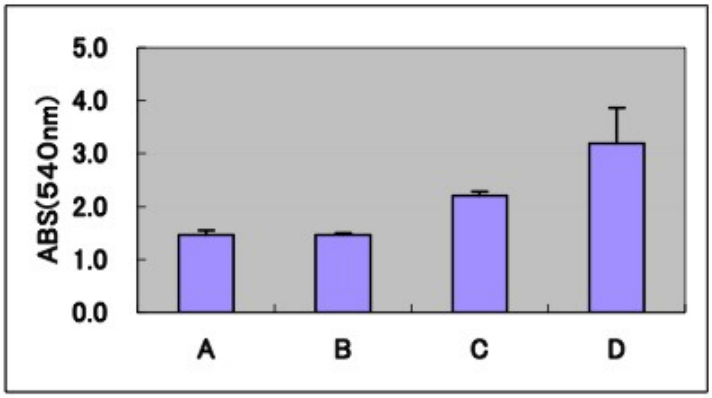


Figure 1

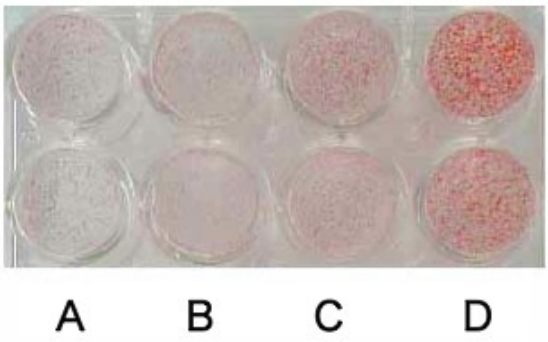


Figure 2

References

(1) Tashiro, K., Inamura, M., Kawabata, K., Sakurai, F., Yamanishi, K., Hayakawa, T., Mizuguchi, H. Efficient Adipocyte and Osteoblast Differentiation from Mouse Induced Pluripotent Stem Cells by Adenoviral Transduction. Stem Cells. 27, 1802-1811 (2009)

Notice to Purchaser

This product is to be used for Research Purposes Only. It is not to be used for Drug or Diagnostic Purposes, nor is it intended for Human Use. Primary cell products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without the express written consent of Primary Cell Co., Ltd.

Except as otherwise expressly set forth in this use manual, Primary Cell dose not make any representation or warranties or conditions of any kind, either express or implied, with respect to the products, or information disclosed hereunder, including, but not limited to, the implied warranties of merchantability, fit for a particular purpose, or noninfringement of the intellectual property rights of third parties.

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
Phone/FAX: (+1) 760-431-4600
URL: www.cosmobiousa.com

For research use only. Not for clinical diagnosis.

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

一般研究用キット

リピッドアッセイキット
(Lipid Assay kit, Code No. AK09F)

2023 年 9 月 28 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用ください。

脂肪細胞は、前駆細胞から未熟な脂肪細胞そして成熟脂肪細胞へと分化が進むにつれて、細胞内に中性脂肪を合成し脂肪球として蓄積します。そのため蓄積した脂肪球を評価することで脂肪細胞の分化の程度がわかります。

本キットは、親油性赤色色素であるオイルレッド O によって脂肪細胞内の脂肪球を赤く染めることができる染色キットです。さらに赤く染まった脂肪球を抽出液で抽出し、色素量を定量することによって中性脂肪量も推測することもできます。

《Ⅰ-1. キット構成》

内　容	容量	本数	保存温度	危険表記および取扱上の注意
オイルレッド O　原液 Oil Red O Solution	150mL	2 本	室温	(成分としていずれもｲｿﾌﾟﾛﾋﾟﾙｱﾙｺｰﾙを含む) 労働安全衛生法　第 57 条の 2 に該当 危険
抽出液 Solvent for Oil Red O Extraction	200mL	2 本	室温	・引火性の高い液体及び蒸気 ・飲み込むと有害のおそれ(経口) ・皮膚に接触すると有害のおそれ(経皮) ・強い眼刺激 ・中枢神経系、腎臓、全身毒性の障害 ・呼吸器への刺激のおそれ ・生殖能または胎児への悪影響のおそれの疑い

※本キットで、24 well プレート 30 枚分を測定することができます。

※お客様にご用意していただく試薬は、固定液（下記説明）、PBS、精製水を別途にご用意願います。

《Ⅰ-2. キットの特徴》

・細胞内の脂肪球を簡単に染色できる。

・色素量から中性脂肪量の変動を測定できる。

《Ⅱ. 固定液の調製》

固定液調整法

37%ホルムアルデヒド液（ホルマリン原液）	100 mL
精製水	900 mL
りん酸 2 水素ナトリウム・1 水和物（$NaH_2PO_4 \cdot H_2O$）	4 g
りん酸水素 2 ナトリウム・無水（Na_2HPO_4）	6.5 g

市販試薬をご購入の場合は、10%中性緩衝ホルマリン液（和光純薬工業株式会社製、組織固定用 1 L、Cat.No.062-01661　または同等品）にて使用可能です。

《Ⅲ-1. 測定方法 －24wellプレートを使用した場合－》

(1)　24ウェルプレートで培養した脂肪細胞をご用意ください。

(注意) これ以降の作業は、培養面から脂肪細胞が剥がれやすい状態のため注意深く行ってください。

(2)　培養液を除去後、1ウェルあたり500μLのPBSで1回洗浄してください。

(3)　1ウェルあたり固定液を500μL加え、室温で1晩固定してください。

(4)　固定後、1wellあたり精製水500μLで洗浄して下さい。

(5)　《Ⅲ-2.オイルレッドO液の調製》に従ってオイルレッドO液の調製してください(用時調製)。

(6)　各ウェルに(5)のオイルレッドO液を500μLずつ分注し、室温で15分間静置して下さい。

(7)　15分後オイルレッドO液を除去し、1ウェルあたり精製水で3回以上洗浄してください。洗浄水が透明になるまでよく洗浄して下さい。

(8)　洗浄後、蒸留水を加えて観察してください。脂肪球が大きい細胞は、乾燥しても観察が可能です。脂肪球が小さい細胞では、膜が破れ脂肪が融合し、形状崩壊することがあります。

(9)　脂肪滴の定量は、乾燥させたウェル内に抽出液を 500μL 加えて色素を溶出させます。溶出させる時間は、30分から2時間程度です。溶出させた溶液を、分光光度計で波長540nmにおける吸光度を測定して下さい。分光光度計の検出限度を超える場合は、抽出液で希釈して再測定してください

《Ⅲ-2. オイルレッドO液の調製》

オイルレッドO液は、用事調製のため使用前に以下の通りに調製してください。

(1)　オイルレッドO原液：精製水を6：4の比率で混合し、室温で10~15分間静置して下さい。

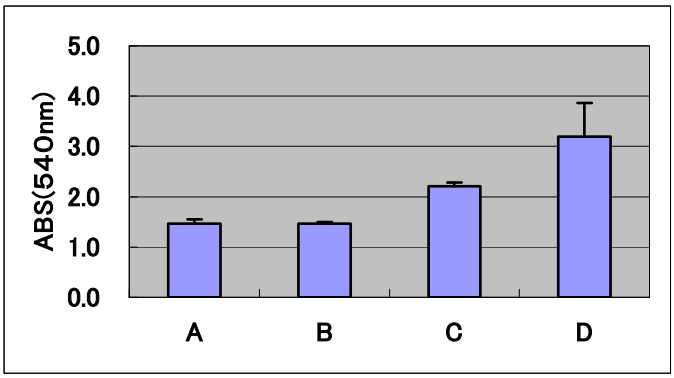
(2)　その後、孔径0.5～1.0μmのメンブランフィルターでろ過し、ろ液をオイルレッドO液とします。

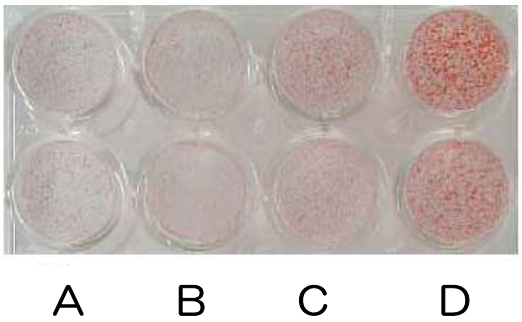
※オイルレッドO液は、調製後1～2時間以内にご使用ください。析出が生じた場合はご使用することができません。

《Ⅳ. 脂肪定量の例》

各試料に対する脂肪細胞の影響について、ラット内臓脂肪細胞を用いて検討をおこなった結果になります。各試料で培養し脂肪滴の蓄積量を本キットで検出しました。

オイルレッドO染色した腸間膜脂肪細胞(右図)と、引き続き抽出液で溶出し波長540nmで測定した結果(左図)になります。





《本製品をご利用になられた文献、発表データ 》

本製品をご利用いただいて投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付先：〒047-0261　北海道小樽市銭函 3 丁目 513 番 2
コスモ・バイオ株式会社　札幌事業部　あて郵送
または　primarycell@cosmobio.co.jp　あて PDF ファイル送信

コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

〒135-0016　東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : http://www.cosmobio.co.jp/

● 営業部（お問い合わせ）
TEL : (03) 5632-9610　FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620

● 札幌事業部（技術的なお問い合わせ）
TEL : (0134) 61-2301　FAX : (0134) 61-2295
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp
URL : http://www.primarycell.com/