

# アルカリホスファターゼ染色キット

## (Alkaline Phosphatase Staining kit, Code No. AK20)

平成 25 年 9 月 2 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用ください。

骨の内部では、骨芽細胞による骨形成と、破骨細胞による骨吸収とのバランスによって骨量のコントロールがおこなわれ、常に再構築（リモデリング）しています。破骨細胞のマーカー酵素は酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ（Tartrate-Resistant Acid Phosphatase ; TRAP）であるに対して、骨芽細胞のマーカー酵素はアルカリホスファターゼ（Alkaline phosphatase, ALP）です。

本キットは、アルカリホスファターゼを簡便に検出できるように構成した染色キットで、骨芽細胞などの検出に用いてください。

## 《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
基質緩衝液	50 mL	1 本	4~10°C (禁凍結)	(成分として N,N-ジメチルホルムアミドを 1.2% 含む) 労働安全衛生法 第 57 条の 2 に該当 危険    ・引火性液体及び蒸気 ・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) ・重篤な眼の損傷 ・呼吸器の障害のおそれ ・肝臓の障害 ・生殖能または胎児への悪影響のおそれ
発色基質	5mL 用	10 本	4~10°C	成分は労働安全衛生法に非該当ですが、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。

※本製品は、12well プレート 10 枚分を染色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》

- 簡便にアルカリホスファターゼを細胞染色することができる。

## 《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 <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O)	4 g
りん酸水素 2 ナトリウム・無水 (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	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. 染色方法 ー12well プレートを使用した場合ー》

- (1) 12well プレートで培養した細胞をご用意ください。
- (2) 培養液を除去後、1wellあたり PBS 1mL で 3 回洗浄してください。
- (3) 1 well あたり固定液 500  $\mu$ L 加え、室温で 20 分間固定してください。
- (4) 固定液を除去し、1 well あたり精製水 2mL で 3 回洗浄してください。
- (5) 発色基質 1 本に対して基質緩衝液 5mL を加え溶解し、1well あたり 400  $\mu$ L 加えてください。  
※ 溶解済みの発色基質は保存できません。用時調製です。  
※ 発色基質が溶けにくい場合は、ボトルごと超音波洗浄機に数秒間浸けて溶解してください。  
沈殿が認められる場合は、ろ過 (孔径 0.5  $\mu$ m 程度) もしくは溶液を遠心しその上清を使用してください。
- (6) 37°Cで 5~20 分加温してください。ALP 活性がある部分は図 1 に示したように青く染色されます。
- (7) 十分に発色しましたら、精製水でウェル内を洗浄し反応を止めてください。

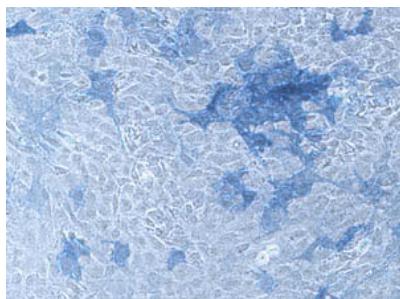


図 1. 3T3-E1 細胞をアルカリホスファターゼ染色キットで染色

### 《IV. 関連製品の紹介》 表に記載した製品は一部になります。 詳しくは web からご覧ください。

#### 石灰化染色キット

##### 特徴

- ・石灰化した骨結節を赤く染色できる。
- ・骨芽細胞、3T3-E1 細胞などから形成されたカルシウム沈着を検出するのに最適。

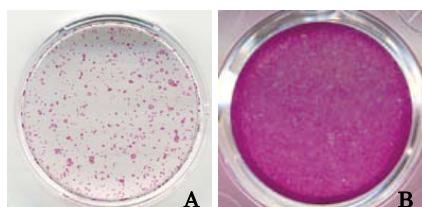


図 培養細胞を石灰化染色キットで検出した写真

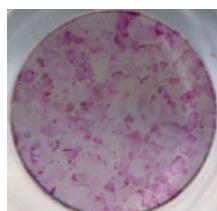
- A. 骨形成メディウム(Code: OGC10)で培養した 3T3-E1 細胞  
(35mm Dish で培養)
- B. 骨形成培養キット(Code: OGC11)で培養した細胞  
(24well プレートで培養)

品名	商品コード	内容	包装
石灰化染色キット	AK21	・緩衝液 ・染色基質	24well プレート×10回分

#### TRAP 染色キット

##### 特徴

- ・酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ(Tartrate-Resistant Acid Phosphatase)を赤く染色できる。
- ・TRAP を酵素マーカーとする破骨細胞の検出に最適。



破骨細胞 (Code: OSC02)を TRAP 染色キットで染色 (96well プレートで培養)

品名	商品コード	内容	包装
TRAP 染色キット	AK04F	・50mM 酒石酸含有緩衝液 ・発色基質	96well プレート×10回分

## 骨関連培養細胞キット

品名	商品コード	キット構成
破骨細胞培養キット V-4 (ラット) ※凍結細胞で発送	OSC01	破骨前駆細胞 (4本)、洗浄用メディウム、培養用メディウム、象牙質切片
破骨細胞培養キット V-2 (ラット) ※凍結細胞で発送	OSC02	破骨前駆細胞(2本)、洗浄用メディウム、培養用メディウム、象牙質切片
破骨細胞培養キット V-2 (マウス) ※凍結細胞で発送	OSC03	破骨前駆細胞(2本)、洗浄用メディウム、培養用メディウム、象牙質切片
破骨細胞培養キット V-1 (マウス) ※凍結細胞で発送	OSC04	破骨前駆細胞(1本)、洗浄用メディウム、培養用メディウム、象牙質切片
頭蓋由来骨芽細胞培養キット V-1 (ラット) ※凍結細胞で発送	OBC02	骨芽細胞 (凍結細胞) 培養用メディウム
頭蓋由来骨芽細胞培養キット F-2 (マウス) ※フラスコに細胞を播種し発送	OBC11	骨芽細胞 (25cm フラスコ×2個) 培養用メディウム
骨形成培養キット (マウス) ※凍結細胞で発送	OGC11	凍結細胞、増殖用メディウム、骨形成メディウム
骨形成メディウム	OGCMO	250mL

## 《V. 参考文献》

(1) A. S. H. De Jong, M. Van Kessel-Van Vark and A. K. Raap.

Sensitivity of various visualization methods for peroxidase and alkaline phosphatase activity in immunoenzyme histochemistry. The Histochemical Journal Volume 17, 1119-1130(1985)

## 《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きて投稿された論文、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。

### 送付方法

〒063-0061 北海道札幌市西区西町北 12 丁目 1-12 YS ビル  
コスモ・バイオ株式会社 プライマリーセル事業部 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

● プライマリーセル事業部 (技術的お問い合わせ)  
TEL : (011) 667-5911 FAX : (011) 667-5912  
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp  
URL : <http://www.primarycell.com/>