

石灰化染色キット

【Calcified nodule Staining kit, Code No. AK21】

平成 25 年 9 月 2 日改訂

※本マニュアルをご精読の上、研究目的にのみご使用ください。

骨形成を担っている骨芽細胞は、分化の程度によってアルカリホスファターゼ、オステオポンチン、オステオカルシンなどが経時的に増加し、カルシウムが沈着した骨結節を形成することが知られています。

アントラキノン誘導体の一つであるアリザリンレッド S は、カルシウムに対し結合することが知られており、この作用を使って古くからカルシウム沈着を直接証明する染色方法として利用されてきました。

本キットは、アリザリンレッド S を成分とした染色基質と緩衝液との組み合わせの染色キットで、簡便に石灰化した骨結節を染色できるようになっています。

《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
緩衝液(100 倍濃縮)	60 mL	1 本	室温 (遮光保存)	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。
染色基質	10mL 用	10 本		

※本製品は、24well 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、メタノール、PBS(-)、精製水になります。

《I-2. キットの特徴》

- ・カルシウム沈着した部位を簡便に染色することができる。

《II. 試薬の調製および保存温度》

(1) 緩衝液の調製

緩衝液(100 倍濃縮)を精製水で 100 倍希釈して使用してください。室温で 1 か月安定です。

《III. 染色方法 -24well プレートを使用した場合-》

- (1) 24well 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) 1well あたりメタノール 500 μ L 加え、4°C で 20 分間固定してください。
※メタノールは、予め冷凍(-20°C)で冷却した状態にしてください。
- (4) メタノールを除去し、1well あたり精製水 1mL で 3 回洗浄してください。
- (5) 染色基質 1 本に対して緩衝液 10mL を加え溶解し、1well あたり 400 μ L 加えてください
※溶解済みの染色基質は保存できません。用事調製です。
- (6) 室温で 5 分間静置してください。
- (7) 1well あたり緩衝液 1mL 加えて、well 内を洗浄してください。洗浄液が透明になるまで洗浄してください。
- (8) カルシウム沈着した場所が赤く染色されます。

《IV. 染色例》

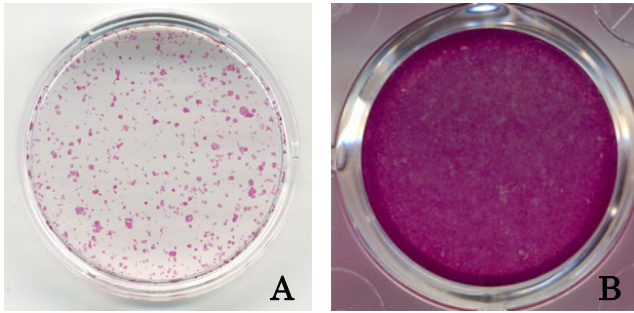


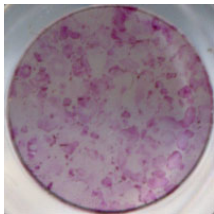
図1. 培養細胞を石灰化染色キットで検出。
 A. 骨形成メディアウム(Code:OGCMO)で培養した
 3T3-E1 細胞 (35mm Dish で培養)
 B. 骨形成培養キット(Code:OGC11)で培養した細胞
 (24well プレートで培養)

《V. 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。

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。



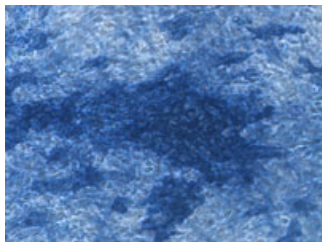
96well プレートで培養させたラット破骨細胞(Code: OSC01)を TRAP 染色キットで染色した。

品名	商品コード	内容	包装
TRAP 染色キット	AK04F	<ul style="list-style-type: none"> ・50mM 酒石酸含有緩衝液 ・発色基質 	96well プレート×10 回分

アルカリホスファターゼ染色キット

特徴

- ・アルカリホスファターゼ(ALP)を青く染色できる。
- ・ALP 活性が高い骨芽細胞などの検出に最適。



骨形成メディアウム(Code: OGCMO)で培養させたラット骨芽細胞(Code: OBC02)をアルカリホスファターゼ染色キットで染色した。

品名	商品コード	内容	包装
アルカリホスファターゼ染色キット	AK20	<ul style="list-style-type: none"> ・基質緩衝液 ・発色基質 	12well 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
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
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 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
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

《VI. 参考文献》

- (1) Puchtler et.al., On the history and mechanism of alizarin and alizarin red s stains for calcium. J. Histochem. Cytochem. 17(2), p110-124(1969)

《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 (技術的なお問い合わせ)
TEL : (011) 667-5911 FAX : (011) 667-5912
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp
URL : <http://www.primarycell.com/>