

Alcian Blue 染色キット使用説明書

ヒト軟骨細胞をアルシアンブルーで染色できるキットで、48 ウェルプレート 2 枚分(96 サンプル分)の染色が可能です。

原理

間葉系幹細胞から軟骨細胞への分化は、細胞増殖をしながら前駆細胞、前肥大化細胞を経て肥大化軟骨細胞へと誘導されていきます。軟骨細胞分化初期にはⅡ型コラーゲンが、後期にはⅠ型コラーゲンが産生されることが知られており、軟骨細胞分化までの分子機構は、分化初期に Sox9 ファミリーや Runx2 などの転写因子によって分化決定および成熟化までの調節が行われています。本キットは軟骨細胞に含まれるコンドロイチン硫酸やヒアルロン酸などの酸性ムコ多糖類をアルシアンブルーで染色し、色素を溶出後、吸光度を測定することができます。

キット内容

- 1.AB 固定液(BMK-R011-1:プロピレングリコール):25mL、1 本
- 2.AB 洗浄液(BMK-R011-2):100mL、1 本
- 3.pH 調製液(3%酢酸)(BMK-R011-3):50mL、1 本
- 4.AB 染色液(pH 2.5)(BMK-R011-4):25mL、1 本
- 5.AB 溶出液(BMK-R011-5:1-プロパノール、グアニジン塩酸塩など):25mL、1 本
- 6.使用説明書

保管・有効期間

- ・キット外袋に記載

キット以外の必要器具・試薬

- ・生理食塩水または PBS(-)
- ・精製水
- ・48 ウェルプレート
- ・ピペット等の細胞培養で使用する器具

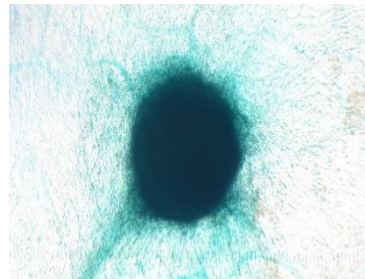
操作方法

A:染色方法

- ・培養面から細胞が剥がれやすい状態のため丁寧に行ってください。
- ・48 ウェルプレートで培養した細胞を想定しています。

- ① 間葉系幹細胞を軟骨細胞分化誘導培地で約 4 週間培養後、培養液を取り除き、1 ウェルあたり 0.5mL の PBS(-)または生理食塩水で 1 回洗浄する。
- ② AB 固定液を 0.25mL 添加し、30~60 分静置(固定)する。
- ③ AB 固定液を取り除き、0.5mL の AB 洗浄液で 2 回洗浄する。
- ④ pH 調製液(3%酢酸)を 0.25mL 添加して 2~3 分静置する。
- ⑤ pH 調製液を取り除き、0.5mL の精製水で 1 回洗浄する。
- ⑥ AB 染色液を 0.25mL 添加し、室温、静置、遮光下にて Overnight で染色する。
- ⑦ AB 染色液を取り除き、pH 調製液を 0.25mL 添加して 2~3 分静置する。
- ⑧ pH 調製液を添加して、0.5mL の精製水で 2 回洗浄する。
- ⑨ 洗浄後、顕微鏡で青く染まっている軟骨細胞を確認する。

アルシアンブルーで染色した写真



B:数値化

標準物質の設定ができないため定量はできませんが、サンプル間の比較は可能です。

- ① ウェルから精製水を除去し、AB 溶出液を 0.15~0.25mL 加え、Overnight で色素を溶出させる。
 - ② AB 溶出液の適当量を分光光度計にて 620nm の吸光度を測定する。
- ※AB 溶出液を使用する際は、ピペットで取り出し、ボトルの縁に付着しないようにしてください。ボトルの縁に付着したままにすると、結晶が析出する恐れがあります。

Q&A

●48 ウェルプレート以外でも染色できますか？

→可能です。各溶液の添加量は、容器や細胞に合わせて変更してください。

●AB 溶出液のボトルの縁に析出物が付着していますが、使用できますか？

→析出物を AB 溶出液で溶解させてから使用してください。溶け切らない場合は、40℃程度に加温してから使用してください。

販売試薬

商品名	品番
軟骨細胞分化誘導キット	BMK-R010
脂肪幹細胞分離キット	BMK-R001
脂肪幹細胞分離キット(アルブミンフリー)	BMK-R004
BSCM-SP1 脂肪幹細胞分離培地(アルブミンフリー) 容量:200mL 冷蔵	BMK-S001
BSCM-PL1 間葉系幹細胞増殖培地(アルブミンフリー) 容量:500mL 冷蔵	BMK-S002
脂肪幹細胞分離基材 10 枚	BMK-R003

<注意>

この製品は研究用試薬ですので、診断または治療用途で使用しないでください。

<お問合せ先>

株式会社バイオ未来工房

TEL:03-6435-3915

FAX:03-6435-3916

E-mail:info@bmk.co.jp

HP:<http://biomk.sakura.ne.jp>

<製造発売元>

株式会社バイオ未来工房

東京都港区芝 3-17-15 クリエイト三田 106