

## 石灰化評価セット

本製品は、分化した培養骨芽細胞により形成されたマトリックス中の石灰化結節（リン酸カルシウム）を染色し、リン酸カルシウムに結合した色素を溶出する試薬セットです。溶出液の吸光度を測定することで、骨芽細胞の分化（石灰化）の評価にご使用いただけます。

### 1) 試薬セットの構成

- ①アリザリンレッド溶液（製品コード：ARD-A1、100mL、1本）
- ②石灰化結節溶解液（5%ギ酸、製品コード：ARD-E1、100mL、1本）

### 2) 方法

- (1) 培養後の 24well あるいは 48well プレートからの培地を除き、PBS にて 1 回洗浄する。
- (2) 中性緩衝ホルマリン溶液で固定する。
- (3) 固定液を除き、精製水あるいは水道水でプレートを洗浄する。
- (4) well 内の水をきれいに除いた後、アリザリンレッド溶液を 0.5mL/well(24well プレート) あるいは 0.25mL/well(48well プレート)で添加し、室温で 30 分間染色する。
- (5) アリザリンレッド溶液を除き、精製水あるいは水道水でプレートを洗浄する。
- (6) well 内の水をできるだけ除いた後、石灰化結節溶解液を 0.5mL/well(24well プレート) あるいは 0.25mL/well(48well プレート)で添加し、プレートを 10 分間攪拌して、色素を溶出する。
- (7) 溶出液 100  $\mu$ L を測定用 96well プレートに移し、400~450nm の吸光度を測定する。

### 3) 参考データ

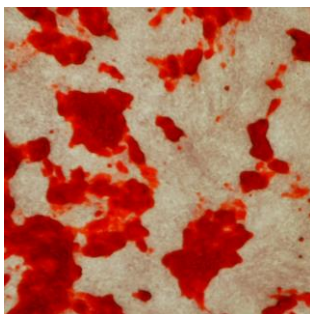


写真 1. MC3T3-E1 細胞が形成したマトリックスのアリザリンレッド染色

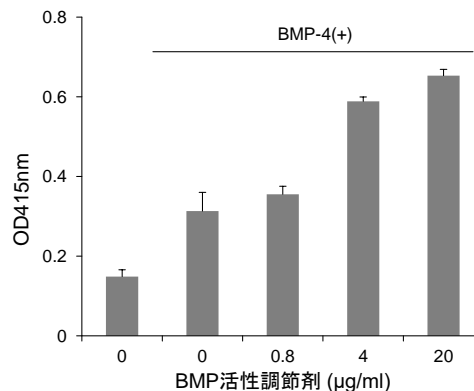


図 1. MC3T3-E1 細胞の石灰化に対する BMP-4 および BMP 活性調節剤（コンドロイチン硫酸 E ナトリウム）の作用

### 4) 注意事項

- (1) 本セットご使用の際には、必ず眼鏡・手袋等の保護具を着用の上、人体へ接触しないようご注意ください。
- (2) アリザリンレッド染色後、well の側面が非特異的に吸着したカルシウム等により強く染色される場合は、精製水で濡らした綿棒などで側面の染色物を除いて下さい。
- (3) リン酸カルシウム固層化プレート（BRA-24P、BRA-48P など）の染色にはご使用できません。

### 5) 引用文献

- (1) Miyazaki T. et. al. Oversulfated chondroitin sulfate-E binds to BMP-4 and enhances osteoblast differentiation. J Cell Physiol. 217: 768-777. 2008.

### 6) 製品の価格

製品コード	品名	仕様	価格	備考
ARD-SET	石灰化評価セット	1セット (ARD-A1, ARD-E1)	15,000 円	室温保存