

CytoSelect™ 48-well Cell Adhesion Assay
Collagen IV Coated
(Colorimetric Format)

Cat. No. CBA-060

研究目的のみのご使用になります
(診断目的にはご使用いただけません)

はじめに

細胞接着は胚形成、遊走/浸潤、組織修復および創傷治癒に関連した複雑な過程です。これらの過程を実行するために、細胞は細胞外マトリックス成分に結合し(接着レセプターを介して)、最終的に細胞の運動性、分化、増殖や生存に影響を与える細胞骨格成分と複合体を形成します。Cell Biolab 社の CytoSelect™ Cell Adhesion Assay Kit は細胞接着を評価するための迅速で定量的な方法をご提供します。このキットには 48 サンプル(ヒト コラーゲン IV コート済みウェルが 40 個と BSA コート済みウェルが 8 個)の評価に十分な試薬を含んでいます。

Cell Biolab 社の CytoSelect™ Cell Adhesion Assay Kit は研究使用のみを対象としており、診断や治療目的には使用できません。

アッセイ原理

CytoSelect™ Cell Adhesion Assay Kit はコラーゲン IV コート済み 48-well プレート(Adhesion Plate Layout 参照)を利用しています。まず細胞をコートした基質の上に播き、接着細胞を接着させます。次に、非接着性細胞を洗浄除去し、接着細胞を固定/染色します。最後にその染色物を抽出し比色定量します。

キットの構成内容

1. Collagen Adhesion Plate (Part No. 106001): ヒト コラーゲン IV コート済み well 40 個と BSA コート済み well 8 個の 48-well プレートが 1 枚
2. Cell Stain Solution (Part No. 11002): ボトル 1 本 – 10.0mL
3. Extraction Solution (Part No. 11003): ボトル 1 本 – 10.0mL

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV
B	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV
C	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV
D	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV
E	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV	Collagen IV
F	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA	BSA

キットには含まれていないが必要な試薬・機器

1. 細胞培養培地
2. 無血清培地 (例えば、0.5% BSA・2mM CaCl₂・2mM MgCl₂ を含む DMEM)
3. 細胞培養インキュベーター (37°C、5% CO₂)

4. 2mM CaCl₂, 2mM MgCl₂を含む 1x PBS
5. 光学顕微鏡
6. 96-well マイクロタイタープレート
7. マイクロタイタープレートリーダー

保存

全構成品は使用期限まで 4°Cで保存してください

アッセイ プロトコール

1. 滅菌条件下で Collagen IV Adhesion Plate を 10 分間室温に置いておく。
2. 無血清培地に $0.1 \sim 1.0 \times 10^6$ cells/ml を含む細胞懸濁液を準備する。細胞接着を阻害もしくは刺激する薬剤を細胞懸濁液に直接加える。
3. 150 μ l の細胞懸濁液を well に加える (BSA コートの well はネガティブコントロールです)。
4. インキュベーター内で 30~90 分間インキュベーションする。
5. 注意しながらそれぞれの well から培地を吸引除去あるいは排泄する (注意:well を乾燥させないこと)。各 well を 250 μ L の PBS で 4-5 回穏やかに洗浄する。
6. PBS を各 well から吸引除去し、Cell Stain Solution を 200 μ L ずつ加える。室温で 10 分間インキュベーションする。
7. Cell Stain Solution を well から排泄あるいは吸引除去する。各 well を 500 μ L の脱イオン水で 4-5 回穏やかに洗浄する。
8. 最後の洗浄液を排泄し、well を乾燥させる。
9. 200 μ L の Extraction Solution をそれぞれの well に加え、10 分間オービタルシェーカーでインキュベーションする。
10. 96-well マイクロタイタープレートに各サンプル 150 μ L を移し、プレートリーダーで OD560nm を測定する。

参考実験結果

下記の図は CytoSelect™ Cell Adhesion Assay Kit を使用した一例です。参照程度に下記データをご使用下さい。このデータを実際の結果として説明することはおやめ下さい。

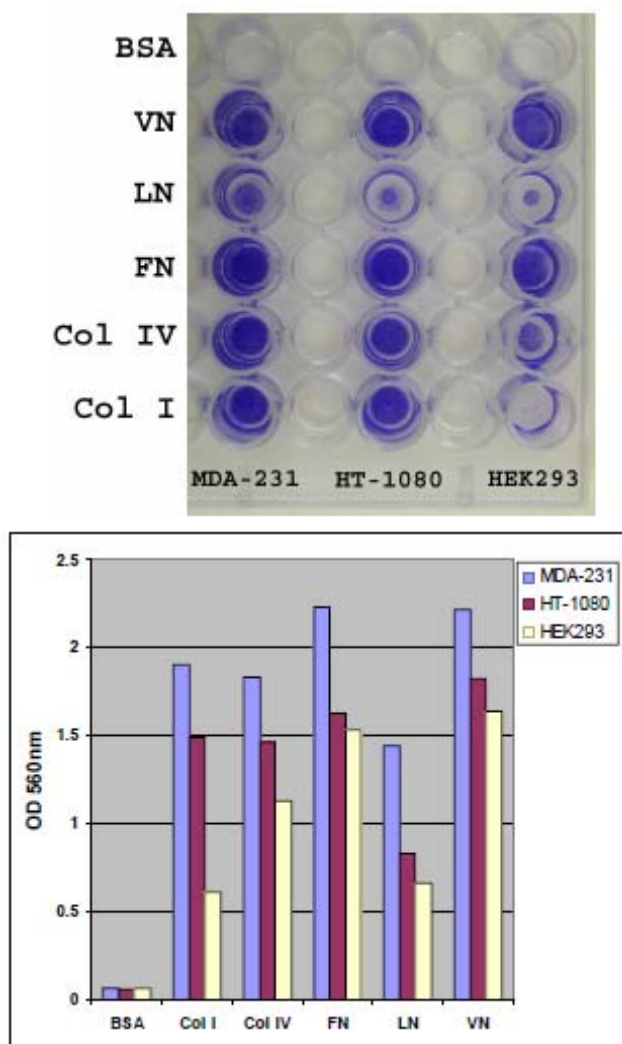


図 1: ECM 介在性細胞接着

血清飢餓細胞を 100,000cells/well 使用し、1 時間 ECM コート済 48-well プレートに接着させた。接着細胞を染色し(上図)抽出後 OD560nm で定量した(下図)。

参考文献:

1. Hynes, R.O. (1992) Cell 69, 11-25.
2. Schwartz, M.A., Schaller, M.D. and Ginsberg, M.H. (1995) Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 11, 549-599.