

# 蛍光標識ゼラチンザイモ電気泳動キット (アトー型)

(FITC-labeled Gelatin-zymography Kit, ATO-type, Code No. AK80)




2019年12月9日


※本品は、研究目的にのみご使用ください。

MMPs(マトリックスメタロプロテアーゼ)は、メタロプロテアーゼファミリーの1つで、生体内で細胞外マトリックス成分の代謝に関与している酵素として20数種類同定されています。そのMMPsの検出方法の1つとして、電気泳動で分離し酵素活性を検出する方法(ザイモグラフィ)が広く利用されております。

本キットは蛍光標識したゼラチンを基質タンパクとしたプレキャストゲルとプレート、バッファー調製などを極力簡略化し、手軽にゼラチンザイモ電気泳動を行えるように構成しております。また、蛍光標識したゲルは、酵素反応を継時的に確認することができます。ヒトおよび各種動物の血液・体液・分泌液・組織・細胞・細胞培養溶液中に含まれているProMMP-2, MMP-2, ProMMP-9などのゼラチナーゼ検出確認にご利用下さい。

## 《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
蛍光標識ゼラチンザイモ 電気泳動プレキャストゲル Precast Gel	12 検体用	5 枚	4~10°C (禁凍結)	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。
MMP Markers (ProMMP-2, MMP-2, ProMMP-9)	0.2mL	1 本	4~10°C	(成分としてトデシル硫酸ナトリウムを1.3%含む) PRTR法 第1種指定化合物質に該当 危険  ※新規対象物質として平成21年10月1日施行 ・可燃性個体 ・皮膚に接触すると有害 ・強い眼刺激 ・長期にわたる、または反復ばく露により腎臓の障害の恐れ ・水生生物に非常に強い毒性あり ・飲み込むと有害 ・皮膚刺激 ・呼吸器への刺激のおそれ
サンプル調製バッファー Sample Preparation Buffer	5mL	1 本	4~10°C	(成分としてトデシル硫酸ナトリウムを2.7%含む) PRTR法 第1種指定化合物質に該当 危険  ※新規対象物質として平成21年10月1日施行 ・可燃性個体 ・皮膚に接触すると有害 ・強い眼刺激 ・長期にわたる、または反復ばく露により腎臓の障害のおそれ ・水生生物に非常に強い毒性あり ・飲み込むと有害 ・皮膚刺激 ・呼吸器への刺激のおそれ
泳動用バッファー (10倍濃縮) Electrophoresis Buffer	100mL	2 本	4~10°C	(成分としてトデシル硫酸ナトリウムを1%含む) PRTR法 第1種指定化合物質に該当 危険  ※新規対象物質として平成21年10月1日施行 ・可燃性個体 ・皮膚に接触すると有害 ・強い眼刺激 ・長期にわたる、または反復ばく露により腎臓の障害のおそれ ・水生生物に非常に強い毒性あり ・飲み込むと有害 ・皮膚刺激 ・呼吸器への刺激のおそれ

洗浄液 (10 倍濃縮) Washing Buffer	100mL	1 本	4~10°C	(成分として Triton X-100 を 20% 含む) 化学名 ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル PRTR 法 第一種指定化学物質に該当  警告  ・重篤な眼への刺激 ・水生生物に有害 ・長期的影響により水生生物に有害
酵素反応用バッファー (10 倍濃縮) Reaction Buffer	25mL	1 本	4~10°C	(成分として Triton X-100 を 10% 含む) 化学名 ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル PRTR 法 第一種指定化学物質に該当  警告  ・重篤な眼への刺激 ・水生生物に有害 ・長期的影響により水生生物に有害

※ガラスプレートサイズは 120(W)×100(H)、ゲルの厚みは 1mm。

※本製品は、アトー株式会社製の電気泳動槽に対応です。

※ゼラチンゼイモ泳動ゲルプレートは、早めにご使用することをお勧めいたします。

また凍結した場合、変性しますので保存温度にご注意ください。

※プレートの素材はガラス製のため取り扱いにご注意ください。

※精製水を別途にご用意願います。

## 《I-2. キットの特徴》

- ・ゼイモグラフィーに必要なプレキャストゲル、試薬類がパッケージングしている。
- ・酵素反応を継時的に確認することができる。

## 《II-1. 試薬調製および保存温度》

### 1. 泳動用バッファー

泳動用バッファー (10 倍濃縮) を精製水で 10 倍希釈して使用して下さい。4°C 保存。

### 2. 洗浄液

洗浄液 (10 倍濃縮) を精製水で 10 倍希釈して使用して下さい。4°C 保存。

### 3. 酵素反応用バッファー

酵素反応用バッファー (10 倍濃縮) を精製水で 10 倍希釈して使用して下さい。4°C 保存。

## 《II-2. サンプル調整および保存温度》

サンプル調整バッファーとサンプルを 1 : 1 で混合し、室温で 15 分間静置して下さい。

注意) 加熱処理は行わないでください。

## 《III. 操作手順》

- (1) 泳動陽極槽 (下) に、泳動用バッファーを 100~150mL 入れる。泳動用バッファーの適量は、電気泳動槽の取扱説明書に従ってください。
- (2) ゼラチンゼイモ泳動プレキャストゲルに挿されているコームを慎重に抜き取り、泳動槽にセットする。サンプルホールがある辺が上になります。ホールに乱れがある場合は、針などを用いて形状を整えて下さい。
- (3) 泳動陰極槽 (上) に、泳動用バッファーを 100mL 程度入れる。
- (4) ゲルプレートにあらかじめ調製したサンプル、および MMP マーカーを 10uL/well で添加する。  
(MMP マーカーを 10μL 添加し、37°C で 24 時間酵素反応を行った泳動パターンが図 1 になります)  
※MMP マーカーは、サンプル調整バッファーと混合せずにそのままご使用できます。
- (5) 15mA の定電流で泳動する (ゲルが 2 枚の場合は 30mA)。
- (6) 泳動が終了したら電源を切り、泳動槽からゲルプレートを外す。
- (7) ゲルプレートの上部のガラス板を取り除き、下部のガラス板 (最も大きなガラス) からスパチュラなどを用いて、ゲルを取り外す。
- (8) ゲルを洗浄液 200ml が入っている容器に移し、室温で 1 時間振盪する。
- (9) 別の容器に酵素反応用バッファー 50mL を入れ、この容器にゲルを移して密封し、37°C に設定した恒

温器に入れ 20～40 時間（酵素濃度が低いほど長時間反応させる）酵素反応を行う。  
 (10) ゲルを 20 時間～40 時間の間に適時取り出し、ゲル撮影装置で撮影する（蛍光波長は 535nm）。  
 または FITC の波長（励起波長 495nm、蛍光波長 520nm）を参考にしてください。

《IV. 泳動パターン例》

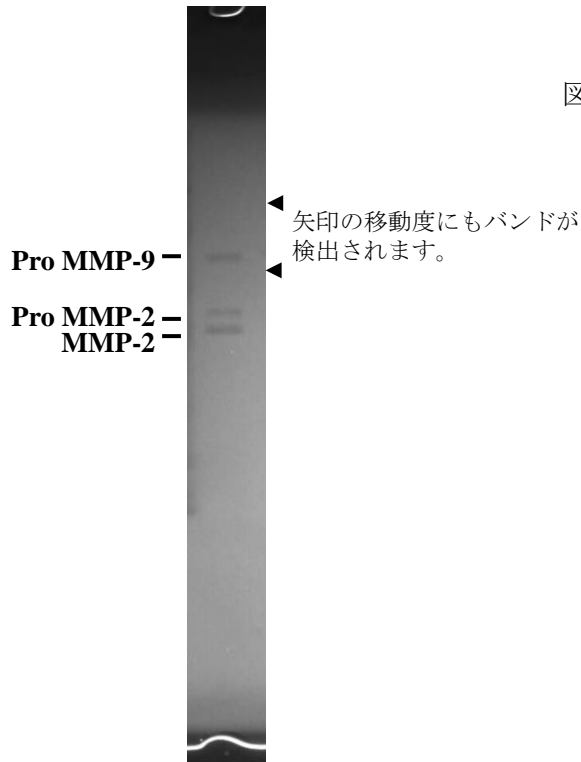


図 1. MMP マーカーの泳動パターン

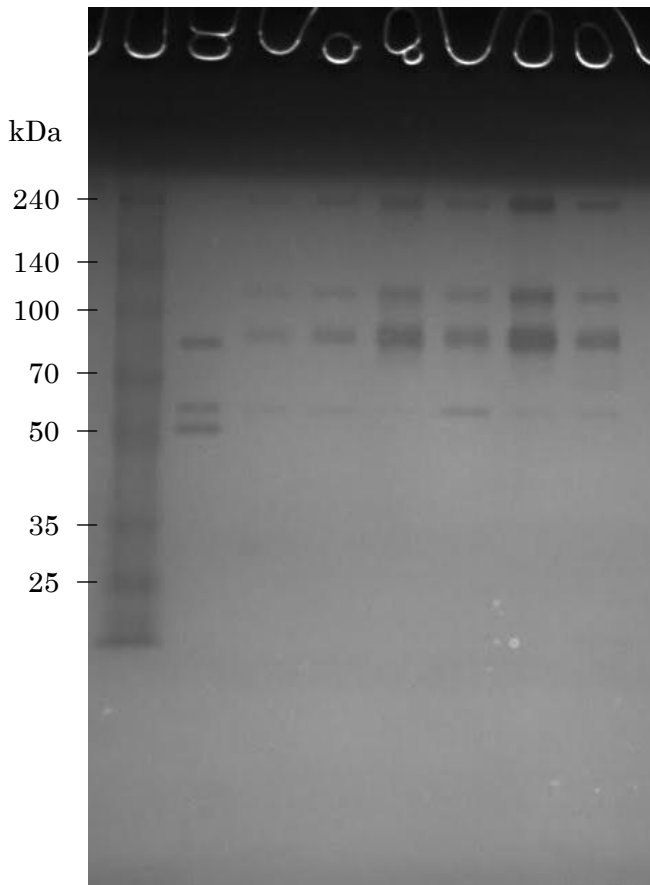


図 2. 蛍光ゼラチンゼイモ電気泳動の 40 時間後の泳動パターン  
 （左から分子量マーカー、MMP マーカー、ヒト涙液サンプル 6 種類）

## 《V. 関連製品のお知らせ》

本製品のプレキャストゲル、MMP マーカーの単品販売、およびアトー製泳動槽に対応した製品をご用意致しましたのでご利用ください。

詳しくは弊社ホームページをご覧ください。 [www.primarycell.com](http://www.primarycell.com)

メーカーコード	品名	キット構成
AK81	蛍光標識ゼラチンザイモ電気泳動プレキャストゲル (アトー型)	蛍光標識ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル (5枚)
AK82	蛍光標識ゼラチンザイモ電気泳動プレキャストゲル (アトー型)	蛍光標識ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル (10枚)
AK83	蛍光標識ゼラチンザイモ電気泳動キット(コスモ・バイオ型)	蛍光標識ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル、泳動用バッファー、洗浄液、酵素反応用バッファー、サンプル調整バッファー、MMP マーカー
AK84	蛍光標識ゼラチンザイモ電気泳動プレキャストゲル (コスモ・バイオ型)	蛍光標識ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル (5枚)
AK85	蛍光標識ゼラチンザイモ電気泳動プレキャストゲル (コスモ・バイオ型)	蛍光標識ゼラチンザイモ泳動プレキャストゲル (10枚)
AK60	カゼインザイモ電気泳動キット (アトー型)	カゼインザイモ泳動プレキャストゲル、泳動用バッファー、洗浄液、酵素反応用バッファー、サンプル調整バッファー、染色液、MMP マーカー
AK63	カゼインザイモ電気泳動キット (コスモ・バイオ型)	カゼインザイモ泳動プレキャストゲル、泳動用バッファー、洗浄液、酵素反応用バッファー、サンプル調整バッファー、染色液、MMP マーカー
AK38	ゼラチンザイモ用 MMP マーカー	200 $\mu$ L

## 《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。

送付先：〒047-0261 北海道小樽市銭函3丁目513番2  
コスモ・バイオ株式会社 札幌事業部 あて郵送  
または [primarycell@cosmobio.co.jp](mailto: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

● 札幌事業部 (技術的なお問い合わせ)  
TEL : (0134) 61-2301 FAX : (0134) 61-2295  
E-mail : [primarycell@cosmobio.co.jp](mailto:primarycell@cosmobio.co.jp)  
URL : <http://www.primarycell.com/>