

Gla형 및 Glu형 osteocalcin을 동시 측정에!!

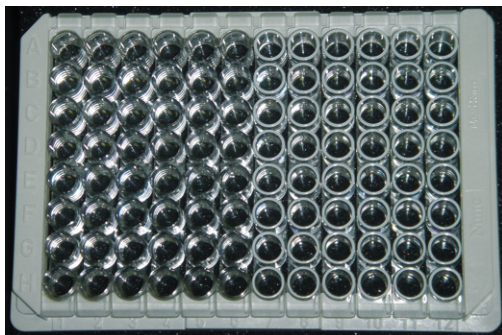
Gla/Glu-osteocalcin(Gla/Glu-OC) EIA Kit(Procoated)

TaKaRa Code MK130 각 48 회

- 기존 제품인 Gla-Type osteocalcin(Gla-OC) EIA Kit(Procoated)(TaKaRa Code MK111)와 Undercarboxylated osteocalcin(Glu-OC) EIA Kit(Procoated)(TaKaRa Code MK118)를 하나의 Set로 만든 kit이다.
- Bone metabolism은 bone formation과 bone absorption의 상호 작용을 통해 항상성을 유지하고 있다. 본격적인 실험에 앞서 예비실험으로 bone formation marker(Gla형)와 bone absorption marker(Glu형)를 동시에 측정하고자 하는 경우에 권장한다.

Kit의 내용(각 48회용)

1. Antibody coated microtiter plate	
Anti Gla-OC monoclonal antibody(GlaOC4-30) plate	8 well × 6 strips
Anti Glu-OC monoclonal antibody(GluOC4-5) plate	8 well(흰색 테두리) × 6 strips
2. Antibody-POD(peroxidase) conjugate	
Gla-OC용 peroxidase 표식 OCG4 antibody(동결건조품)	11 ml용
Glu-OC용 peroxidase 표식 OCG3 antibody(동결건조품)	11 ml용
*표식 항체에는 1 plate(8 well × 12 strips)에 해당하는 양이 포함되어 있다.	
3. Standard	
Gla-OC용 소(Natural bone origin) osteocalcin(동결건조품)	1 ml용
Glu-OC용 사람(Full length 합성) osteocalcin(동결건조품)	1 ml용
4. Sample Diluent	
25 % BlockAce™ 함유 PBS 포함 방부제	12 ml × 2
5. Substrate Solution	
TMBZ: 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine	12 ml
6. Stop Solution	
1N sulfuric acid	12 ml

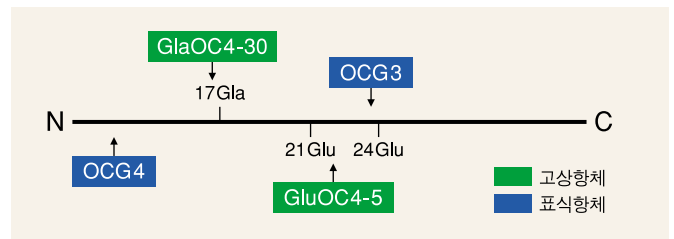


항체 plate

성능

(1) 사용한 항체의 epitope에 관한 정보

GlaOC4-30	: 17번째 Gla 잔기(residue) 인식
GluOC4-5	: 21, 24번째 Glu 잔기(residue) 인식
OCG4	: N-terminus 4~9번째(residue) 인식
OCG3	: 중앙의 21~31 자리(residue) 인식



(2) Kit 내 항체의 조합 정보

Gla형(활성형) osteocalcin 측정시	
고상: GlaOC4-30	표식: OCG4
Glu형(비활성형) osteocalcin 측정시	
고상: GluOC4-5	표식: OCG3
이외에 다음과 같은 조합도 가능하다*.	
고상: GluOC4-5	표식: OCG4

*: 이 조합에서는 N-말단의 분해되지 않은 Glu형 osteocalcin을 측정할 수 있다. 그러나 혈중 측정 시에는 Glu형 osteocalcin의 대부분이 N-말단이 손상된 형태를 하고 있기 때문에 OCG3과의 조합에 비해 검출 감도가 낮다. 또한 GlaOC4-30과 OCG3의 조합은 측정할 수 없다.

(3) 동시측정을 할 수 있는 대상 동물

사람, 소, 토끼, 원숭이, 양, 염소

(4) 측정범위, 감도

Gla형(활성형) osteocalcin 측정시	
측정범위: 0.5~16.0 ng/ml	감도: 0.5 ng/ml
Glu형(비활성형) osteocalcin 측정시	
측정범위: 0.25~8.0 ng/ml	감도: 0.25 ng/ml

(5) 동시재현성, 일별재현성

TaKaRa Code MK111과 TaKaRa Code MK118의 성능을 유지하고 있다.

실험 예: 사람 혈청 시료와 HAP 분획 시료의 측정

Gla형 osteocalcin(Gla-OC)은 hydroxyapatite(HAP)에 흡착하고, Glu형 osteocalcin(Glu-OC)은 HAP에 흡착하지 않는다. Gla-OC와 Glu-OC를 구별할 수 없는 EIA Kit의 경우에는 시료를 HAP로 분리한 후 Gla-OC와 Glu-OC로 별도로 정량하기 때문에 시료 조제가 복잡하다는 단점이 있다. 반면, 본 Kit는 HAP 분리 과정 없이 혈청에서 2가지를 각각 정량할 수 있다. 본 실험에서는 혈청시료(비분획 시료)와 HAP 분획시료의 양쪽에서 측정하여 혈청 시료에서 직접 확인하였다.

[방법]

HAP 분말을 100 mg씩 첨가한 microtube에 사람 혈청 시료(비분획 시료, Glu-OC+Gla-OC) 1 ml를 첨가하여 실온(25 ℃)에서 1 시간 섞은 후, 원심분리기를 사용하여 10,000 rpm에서 침전과 상청을 분리하였다. 이 상청을 HAP 비흡착 시료(Glu-OC 분획)로 하였다.

다음에 이 침전을 ddH₂O 1 ml에서 3 회 원심분리하여 세정하고, 마지막으로 0.5 M 인산완충액(pH7.3) 1 ml를 첨가하여 침전 흡착물을 용출하였다. 이 용출액을 HAP 흡착시료(Gla-OC 분획)로 하였다. 본 배합 Kit를 사용하여 이 세 가지 시료 내의 Gla-OC와 Glu-OC를 측정하였다.

[결과]

본 Kit는 혈청시료에서 Gla-OC와 Glu-OC를 직접 분별 정량할 수 있는 것으로 확인되었다(표 1).

또한 혈청 시료의 경우에는 값이 조금 낮게 나오는데, 이는 혈청성분의 영향에 의한 것이다. 혈청시료 간 비교에서는 혈청의 희석 배율을 동일하게 하는 것이 중요하다는 것을 시사하고 있다.

표1

Gla-OC측정치			혈청 방법	Glu-OC측정치		
Serum 혈청	HAP 비흡착	HAP 흡착		Serum 혈청	HAP 비흡착	HAP 흡착
0.469	0.000	0.946	S33	0.645	0.755	0.000
0.563	0.000	0.950	S34	1.312	1.431	0.000
1.451	0.255	2.527	S42	0.920	1.228	0.000
20.000	0.219	14.860	S48	0.315	0.572	0.000
1.592	0.000	2.331	S49	0.196	0.583	0.000
1.810	0.174	2.363	S52	0.159	0.189	0.000
3.459	0.306	5.102	S53	0.933	2.739	0.000
0.524	0.121	0.655	S57	0.850	1.158	0.000
3.027	0.086	3.590	S59	0.777	1.856	0.000
0.724	0.170	0.691	S62	0.143	0.172	0.000

단위 ng/ml

관련 제품

비색법에 의한 골대사 마커 효소의 손쉬운 검출에!!

TRACP & ALP Assay Kit

TaKaRa Code MK301 96 회

- 수용성 pNPP 기질을 사용한 산성 및 알칼리성 phosphatase 활성검출 Kit이다.
- 흡광도 측정에 의해 활성을 검출할 수 있다.
- Buffer를 변경하는 것만으로 어떤 형태의 phosphatase 활성검출에도 사용할 수 있다.
- Tartaric acid를 첨가하면 tartrate-resistant acid phosphatase도 검출할 수 있다.

제품 개요

본 제품은 기질 pNPP(*p*-nitro-phenyl phosphate)를 사용하여 산성 및 알칼리성 phosphatase의 활성을 각각 검출하는 kit이다. Tartaric acid를 첨가하면 osteoclast의 효소 마커 중 하나인 tartrate-resistant acid phosphatase(TRACP)의 활성을 검출할 수 있기 때문에 osteoblast의 효소 마커 중 하나인 alkaline phosphatase(ALP)와 함께 bone metabolism과 관련된 두 가지 효소를 함께 활성 검출할 수 있다.

또한 불용성 기질을 사용한 세포 염색형 Kit TRACP & ALP double-stain Kit(TaKaRa Code MK300)도 판매하고 있으니 실험 목적에 적합하게 선택하기 바란다.

Kit의 내용

pNPP(<i>p</i> -nitro-phenyl phosphate) substrate	24 mg×5 개
세포추출용 용액	11 ml×2 개
Tartaric acid solution	4 ml
phosphatase용 완충액	30 ml
alkaline phosphatase용 완충액	30 ml
Stop solution	11 ml
96 well plate	1 매