

タイトル: ヒト骨髄由来単核細胞の活性染色

カテゴリ: 細胞生物学

キーワード: 骨髄細胞 分化 酒石酸耐性酸性ホスファターゼ
アルカリ性ホスファターゼ 活性染色

データソース: タカラバイオ株式会社

方法:

ヒト骨髄由来単核細胞 (Human Bone Marrow Mononuclear Cells, Lonza社) を種々の添加因子の存在下で培養し、分化細胞となった時期 (培養9日目) に、TRACP & ALP double-stain Kit (製造コード [MK300](#)) を用いて酒石酸耐性酸性ホスファターゼおよびアルカリ性ホスファターゼの活性染色をそれぞれ行った。

< MK300の内容 >

1 細胞固定液	30 ml
2 酒石酸ナトリウム緩衝液	4 ml
3 酸性ホスファターゼプレミックス基質 (NABP/FRVLB)	10 ml用 × 3本
4 アルカリ性ホスファターゼプレミックス基質 (BCIP/NBT)	10 ml用 × 3錠
5 核染色試薬メチルグリーン	10 ml

染色原理

1) 酸性ホスファターゼ活性染色の原理

Naphthol-AS-BI-phosphate

↓ 酸性ホスファターゼ

$\text{HPO}_4^{2-} + \text{naphthol-AS}$

↓ Fast Red Violet LB (ジアゾニウム塩)
アゾ色素 (赤紫) (pH 5.2)

2) アルカリ性ホスファターゼ活性染色の原理

Bromo-Chloro-Indolyl phosphate

↓ アルカリ性ホスファターゼ

$\text{HPO}_4^{2-} + \text{Br-Cl-Indol}$

↓ Nitro Blue Tetrazolium Chloride
ホルマザン色素 (青紫) (pH 9.5)

結果:

ヒト培養骨髄細胞の
酒石酸耐性酸性ホスファターゼおよび
アルカリ性ホスファターゼ活性染色

ビタミンD3添加

M-CGF添加

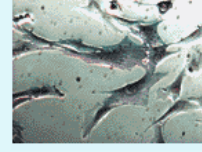
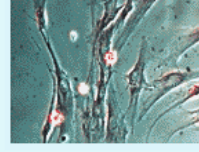
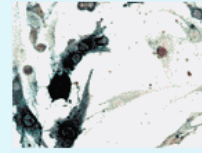
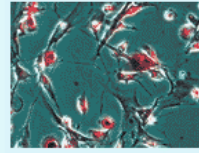
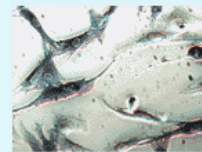
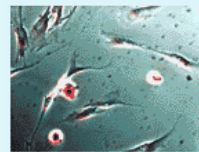
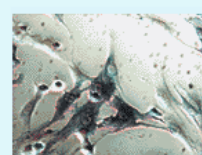
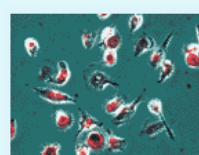
ビタミンD3, M-CGF添加

添加因子による効果で骨髄由来単核細胞から破骨様細胞への分化と共存する間葉系幹細胞からの骨芽系細胞の分化が観察された。

B-グリセロホスフェート、
デキサメタゾン添加

酒石酸耐性
酸性ホスファターゼ
活性染色

アルカリホスファターゼ
活性染色



備考: [その他の技術情報](#)