

タイトル: 骨芽誘導した骨髄細胞のALP染色および上清中のオステオカルシンの測定

カテゴリ: 細胞生物学

キーワード: 分化誘導 骨芽細胞 骨髄細胞 オステオカルシン 骨形成 骨吸収
アルカリ性ホスファターゼ染色

データソース: タカラバイオ株式会社

方法:

正常ラット骨髄細胞 [8 週齢・オス] を 1×10^6 cells/well 撒き込んで 4 日間培養後、Osteoblast Inducer Reagent (for animal cell) (製品コード [MK430](#)) の構成試薬 (1) Ascorbic Acid、(2) Hydrocortisone、(3) β -Glycero phosphate を加えた培地を用いて分化誘導した。経時的に培養上清を採取し、培養上清中に含まれるGla型オステオカルシンをRat Gla-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (製品コード [MK126](#)) により測定した。同時にTRACP & ALP Double-stain Kit (製品コード [MK300](#)) でアルカリ性ホスファターゼ染色を行った。

結果:

A: 骨芽細胞分化培地 (10%FCS/RPMI1640 + Ascorbic acid + Hydrocortisone + β -Glycero phosphate)

B: 基本培地 (10%FCS/RPMI1640 + Ascorbic acid)

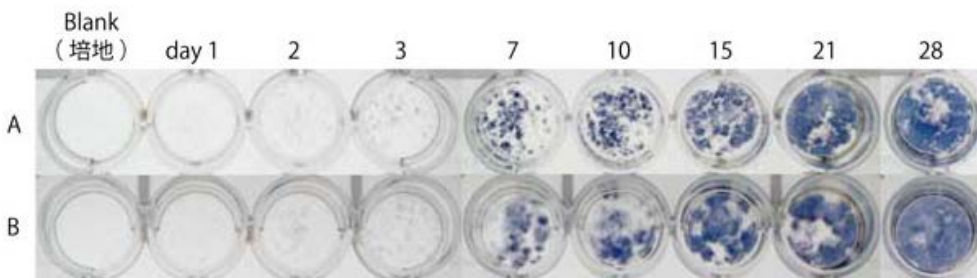
分化開始日を day0 とした。

・Gla型オステオカルシン測定結果: Rat Gla-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (製品コード [MK126](#)) を使用

オステオカルシンの測定 [A450]

	Blank (培地)	day 1	2	3	7	10	15	21	28
A	0.055	0.058	0.054	0.057	0.071	0.638	3.412	4.062	4.012
B	0.057	0.055	0.058	0.061	0.083	0.070	0.057	0.065	0.062

・アルカリ性ホスファターゼ染色結果: TRACP & ALP double-stain Kit (製品コード [MK300](#)) を使用



分化誘導7日目頃からアルカリ性ホスファターゼ陽性細胞が出現した*。その後まもなく、(A)では骨芽細胞より分泌されるタンパク質であるGla型オステオカルシンの産生が確認され、日ごとに両マーカーの産生量が増加していく様子が観察された。

* アルカリ性ホスファターゼ陽性細胞は分化誘導を行っていない(B)でも観察されたが、顕微鏡で細胞形態を確認したところ、(A)では骨基質タンパク質を産生する機能をもった成熟骨芽細胞の出現が見られたが、(B)では見られなかった。

備考: [その他の技術情報](#)