

製品コード MK126

研究用

Takara

**Rat Gla-Osteocalcin
High Sensitive EIA Kit**

説明書

v201903Da

オステオカルシン (Osteocalcin : OC) は、分子中に γ -カルボキシグルタミン酸 (Gla) を 2～3 残基含む分子量約 5,900 のビタミン K 依存性カルシウム結合性・非コラーゲン性タンパク質として知られ、骨芽細胞でのみ産生されていることから、骨芽細胞マーカーの 1 つとなっています。ラットの場合、総アミノ酸数は 50 残基であり、ヒトおよびウシ、ウサギなどは、49 アミノ酸から成り立っています。その中で、17 位、21 位、24 位のグルタミン酸が Gla 化され、カルシウムポケットを形成することから、骨基質への結合能を得ていることがわかります。

骨芽細胞から産生されるオステオカルシンは、通常では 3 カ所いずれのグルタミン酸も Gla 化されて、骨基質に結合する性質を持っていますが、いったん骨の成分となったオステオカルシンが、骨の代謝回転の結果、破骨細胞から出される酵素等で骨基質より溶出する場合には、3 つの Gla 残基のほとんどが脱炭酸され、Glu 型となって骨から脱離し、血液中に流出していきます。そのため、血中のオステオカルシン存在様式としては、Gla 型と Glu 型の両方が共存しています。また、完全長のものからフラグメント化された形態のものまで幅広い分子種が存在していると考えられます。

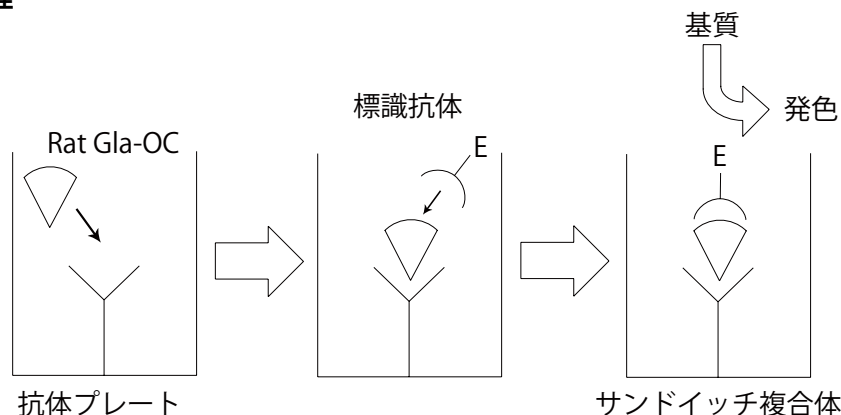
<各動物オステオカルシンのアミノ酸一次構造>

		10	20	30	40	50
Human	1	YLYQWLGAPV	PYPDPLEPRR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGP-V
Bovine	1	YLDHWLGAPA	PYPDPLEPKR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGP-V
Rat	1	YLNNGLGAPA	PYPDPLEPHR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQD	AYKRIYGTTV
Mouse	1	YL----GASV	PSPDPLEPTR	EQCELNPACD	ELSDQYGLKT	AYKRIYGITI
Chicken	1	YAQDSGVAGA	P-PNPLEAQR	EVCELSPDCD	ELADQIGFQE	AYRRFYGP-V
Monkey	1	YLYQWLGAPA	PYPDPLEPKR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGP-V
Pig	1	YLDHGLGAPA	PYPDPLEPRR	EVCELNPDCD	ELADHIGFQE	AYRRFYGI-A

従来の Rat Gla-OC/Glu-OC Competitive EIA Kit は、アミノ酸修飾基特異的抗体を用いた All Gla 型 / All Glu 型をトラップする競合 ELISA 系の測定キットですが、アミノ酸修飾基特異的抗体は動物種普遍的に反応する傾向があり、競合 ELISA 系の場合、他動物のオステオカルシンとの交差反応が認められました。また、競合 ELISA での検量線の測定範囲が、高濃度領域に設定していたことから、ウシ血清などを多く使用する培養細胞上清中の微量なオステオカルシン量のモニタリングには不都合な点が残されていました。

本製品は、ウシ、ヒト、ウサギへの交差反応を抑えたラットオステオカルシン C 末端特異的抗体を固相プレート上での捕捉抗体として利用しています。そして、従来の Gla 型オステオカルシン特異的 (GlaOC4-30) 酵素標識抗体を検出用抗体として用いて、非常に高感度にラット Gla 型オステオカルシンを検出できるように設計しました。これにより、ウシ胎児血清含有培地での培養上清中においても、わずかに産生されたラットオステオカルシンを見逃すことなく検出することができます。

I. 測定原理



II. キットの内容

(1) Antibody Coated Microtiterplate 抗 Rat Gla-OC モノクローナル抗体コーティングプレート (96 ウェル：8 ウェル× 12 strips)	1 plate
(2) Antibody-POD Conjugate (凍結乾燥品) ペルオキシダーゼ標識抗 Gla-OC モノクローナル抗体	11 ml 用
(3) Standard (凍結乾燥品) Gla 型オステオカルシン 全長合成ペプチド 16 ng	1 ml 用
(4) Sample Diluent ブロックエース粉末含有 PBS 含防腐剤	11 ml × 2
(5) Substrate Solution (TMBZ) 3,3',5,5' テトラメチルベンジジン溶液	12 ml

III. キット以外に必要な試薬や器具 (主なもの)

- ・ Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021)
洗浄液成分 (10 × PBS ; 50 ml × 5 本、Tween 20 ; 3 ml) と反応停止液 (60 ml) * のセットです。
* : 本品は、1N 硫酸を含まないペルオキシダーゼ反応停止液です。
- ・ 反応停止液として 1N 硫酸も使用できます。
1N 硫酸の取扱いには充分にご注意ください。
<注意> 1N 硫酸は腐食性があり、皮膚に接触するとただれ等を起こすことがあります。手や粘膜についた場合は、ただちに多量の水で洗い流し、医師の指示に従ってください。
- ・ ピペット、マイクロピペットおよびチップ
- ・ マイクロプレートリーダー (450 nm 設定で吸光度 3.5 まで測定可能なもの)

IV. 保存 4℃

V. 使用目的 ラット由来生体サンプル中の Gla 型オステオカルシン量 (Rat Gla-OC) の測定

VI. 使用方法

1. 検体

- ・ 検体はラット血清・腹水・培養細胞上清および抽出液等を用いる。
- ・ 検体は 2 ~ 10℃ に保存し、12 時間を過ぎて測定する場合は凍結保存する。
- ・ 希釈が必要な場合は (4) Sample Diluent を用いて希釈する。
- ・ ラット血清検体の場合、50 ~ 200 倍希釈して用いるとよい。

2. 試薬調製

- 抗体プレート (1) Antibody Coated Microtiterplate
使用前に室温に戻してから開封する。
- 標識抗体液
(2) Antibody-POD Conjugate を蒸留水 11 ml で溶解する。
溶解後 4℃ で 1 週間は安定である。それ以上保存する場合には - 20℃ 凍結し 1 ヶ月安定である。ただし、凍結は一度までにとどめる。
- Rat Gla-OC 標準液
(3) Standard に蒸留水を 1 ml 加えて溶解し、Rat Gla-OC 標準液 (16.0 ng/ml) を調製する。これを (4) Sample Diluent で用時段階希釈して、16.0、8.0、4.0、2.0、1.0、0.5、0.25 ng/ml の各濃度の標準液を調製しておく。0 濃度は (4) Sample Diluent を用いる。溶解した Rat Gla-OC 標準液 (16 ng/ml) は 4℃ 保存では 1 週間安定で、- 20℃ 保存では 1 ヶ月安定である。ただし、凍結融解は一度だけにとどめる。
- 基質液 (5) Substrate Solution (TMBZ)
反応に用いる前に室温にもどし、そのまま使用する。使用前に基質液が濃い青に変色していないか確認する。金属イオンと反応すると呈色するおそれがあるので、特に水道水が混入しないよう注意する。
数回に分けて使用する場合はあらかじめ必要量を取り分けるようにする。
- 反応停止液 (Stop Solution) *
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021) の Stop Solution をそのまま用いる。
* : 粘度の高い溶液であるため、投入後プレートミキサー等で十分に攪拌してください。
- 洗浄用 0.1% Tween 20 含有 PBS
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021) の 10 × PBS 1 本 (50 ml) を蒸留水で 500 ml に希釈し、さらに Tween 20 を 500 μ l 添加する。十分に混合後、洗浄用バッファー (0.1% Tween 20/PBS) として使用する。

3. 操作法

測定は二重測定で行う。

キット中の各試薬ならびにサンプルは使用前に室温にもどし、泡立てないように混和し、液を均一にしてから用いる。

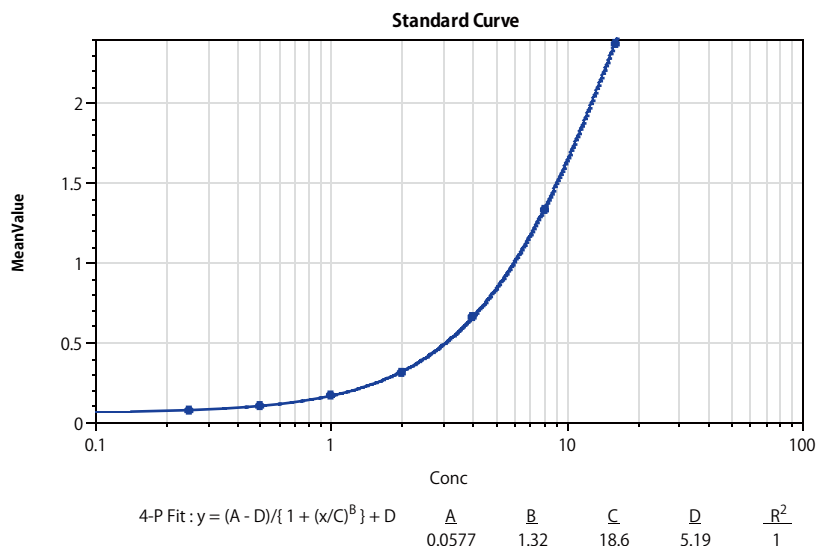
1. 各濃度の Standard および検体を 100 μ l ずつマイクロピペットで各ウェルに 2 連ずつ加え、室温 (20 ~ 30℃) で 1 時間反応させる。サンプルはあらかじめ別の 96 ウェルプレートを利用して用意し、8 連ピペット等ですみやかに (5 分以内) 投入する。プレート内の測定値の信頼を高めるためにも、1 列目と 12 列目とに標準液の希釈系列をおくとよい。37℃ の加温は抗原性をそこなう恐れがあるので室温反応にとどめること。(第一反応)
2. 反応液を捨て、0.1% Tween 20 含有 PBS で 3 回洗浄後、標識抗体液を 100 μ l ずつ 8 連ピペットで各ウェルに加え、室温 (20 ~ 30℃) で 1 時間反応させる。(第二反応)
3. 反応液を捨て、0.1% Tween 20 含有 PBS で 4 回洗浄後、(5) Substrate Solution (TMBZ) を 100 μ l ずつ 8 連ピペットで各ウェルに加え、室温 (20 ~ 30℃) で 10 ~ 15 分反応させる。(第三反応)
4. 反応停止液を 100 μ l ずつ、(5) Substrate Solution (TMBZ) を入れた順番に各ウェルに加え、反応を停止させた後よく混和する。
5. 蒸留水を対照としてゼロ調整し、波長 450 nm で吸光度を測定する。
発色は反応停止後 1 時間までは安定である。
6. グラフ用紙の横軸に各 Standard の濃度を、縦軸に対応する吸光度をプロットして標準曲線を作成し、検体の吸光度から対応する Rat Gla-OC 濃度を読み取る。

VII. 性能

1. 標準曲線 (Rat Gla-Osteocalcin High sensitive EIA Kit)

下記の標準曲線は代表的な一例である。正確な結果を得るためには、測定ごとに標準曲線を作成してください。

最少検出感度：0.25 ng/ml



Rat Gla-OC 濃度 (ng/ml)	16.0	8.0	4.0	2.0	1.0	0.5	0.25	0.0
A450	2.372	1.332	0.659	0.313	0.169	0.105	0.079	0.052

(発色時間：15分)

2. 再現性

<同時再現性試験>

ラット血清を希釈して作製した3種類の濃度コントロールを用いて再現性試験を実施した。

検体 (n = 16)	平均値 (ng/ml)	CV (%)
コントロール A	4.157	5.4
コントロール B	2.521	3.8
コントロール C	1.130	5.0

<日差再現性試験>

三日間にわたり3種類の濃度コントロールの定量を行い、再現性試験を実施した。

検体 (n = 3)	平均値 (ng/ml)	CV (%)
コントロール A	4.358	4.6
コントロール B	2.318	7.7
コントロール C	1.127	2.2

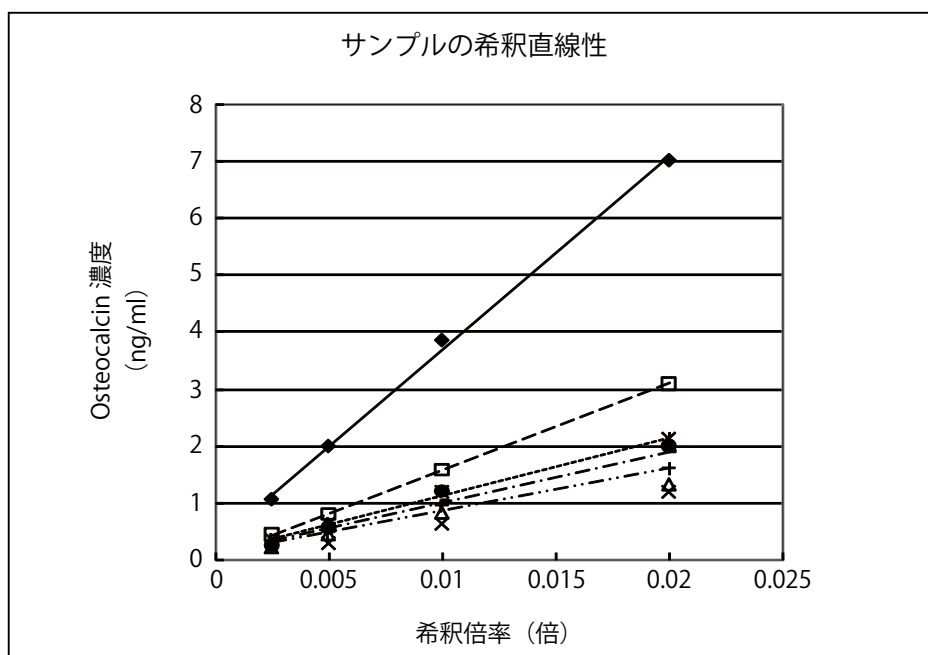
3. 添加回収試験

種々な濃度のサンプルを等量ずつ混合し、予想される理論値と実測値とから回収率を調べた。

サンプル A	サンプル B	A + B (理論値)	A + B (実測値)	回収率 (%)
4.145	1.805	2.975	2.945	98.99
4.145	1.523	2.834	2.529	89.24
4.145	1.211	2.678	2.575	96.15
4.145	0.752	2.449	2.180	89.03
4.145	0.729	2.437	2.141	87.85
4.145	0.630	2.388	2.251	94.28
4.145	0.394	2.270	2.022	89.09
1.805	1.523	1.664	1.803	108.35
1.805	1.211	1.508	1.482	98.28
1.805	0.752	1.279	1.178	92.14
1.805	0.729	1.267	1.339	105.68
1.805	0.630	1.218	1.227	100.78
1.805	0.394	1.100	1.096	99.68
1.523	1.211	1.367	1.606	117.48
1.523	0.752	1.138	1.356	119.21
1.523	0.729	1.126	1.223	108.61
1.523	0.630	1.077	1.110	103.11
1.523	0.394	0.959	1.122	117.06
0.752	1.211	0.982	1.000	101.88
0.752	0.630	0.691	0.717	103.76
0.752	0.394	0.573	0.650	113.44
0.729	1.211	0.970	0.927	95.57
0.729	0.752	0.741	0.731	98.72
0.729	0.630	0.680	0.670	98.60
0.729	0.394	0.562	0.531	94.57
0.394	1.211	0.803	0.793	98.82

n = 26 単位 : ng/ml

4. ラット血清サンプルの希釈直線性



◆ [1]	$y = 339.2x + 0.314$	$r^2 = 0.9981$
□ [2]	$y = 154.01x + 0.0549$	$r^2 = 0.9999$
△ [3]	$y = 62.393x + 0.1366$	$r^2 = 0.9825$
× [4]	$y = 60.643x + 0.0115$	$r^2 = 0.9972$
* [5]	$y = 101.04x + 0.1398$	$r^2 = 0.9975$
● [6]	$y = 99.475x + 0.1112$	$r^2 = 0.9848$
+ [7]	$y = 76.01x + 0.1267$	$r^2 = 0.992$
- [8]	$y = 88.525x + 0.1418$	$r^2 = 0.9994$

VIII. 測定に関する基本資料

1. サンプルの凍結融解および加温の影響

凍結融解の Rat Gla-OC 濃度に対する影響を調べた。ラット血清、腹水および精製オステオカルシンを用いて 25℃と - 80℃で凍結融解を繰り返して、その融解ごとにサンプリングを行った。最終サンプルを得たのち、すべてのサンプルを同時に定量した。また加温の影響を調べるため 37℃で 1 または 2 時間加温したのち定量した。

凍結融解	精製オステオカルシン	ラット血清 [1]	ラット血清 [2]	ラット腹水 [1]
0 回	6.935	1.217	0.378	1.085
1 回	8.198	2.293	0.771	1.301
2 回	8.233	2.331	0.731	1.211
3 回	8.525	2.397	0.832	1.292
4 回	9.041	2.590	0.794	1.253
5 回	8.963	2.599	0.790	1.241
37℃ 加温				
	STD (8 ng/ml)	ラット血清 [1]	ラット血清 [2]	ラット腹水 [1]
1 時間	7.357	0.969	0.304	1.043
2 時間	7.150	0.934	0.306	1.217

単位：ng/ml

結果：

加温の影響により低値になるサンプルが多かった。血中プロテアーゼによる酵素分解を受けたと思われる。凍結融解の回数は、サンプル間で一致させておく必要があると思われる。

2. 各種動物血清との交差反応

各種動物血清との交差反応を調べた。

サンプル名	ニワトリ		アヒル		ハト		七面鳥	
	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml
× 5	0.077	0.084	0.065	under	0.080	0.124	0.062	under
× 25	0.069	under	0.056	under	0.065	under	0.055	under
× 125	0.057	under	0.058	under	0.058	under	0.059	under
× 625	0.060	under	0.061	under	0.063	under	0.064	under

サンプル名	ガチョウ		ウマ		ヤギ		ウシ	
	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml	A ₄₅₀	ng/ml
× 5	0.073	under	0.199	1.035	0.086	0.193	0.157	0.762
× 25	0.069	under	0.112	0.431	0.074	0.035	0.090	0.234
× 125	0.062	under	0.082	0.148	0.065	under	0.066	under
× 625	0.062	under	0.065	under	0.063	under	0.056	under

サンプル名	ヒト		カニクイザル		ICR マウス		モルモット	
	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
希釈倍率								
× 5	0.072	under	0.097	0.301	0.796	4.242	0.087	0.204
× 25	0.067	under	0.077	0.084	0.258	1.388	0.074	0.035
× 125	0.056	under	0.062	under	0.086	0.193	0.062	under
× 625	0.061	under	0.058	under	0.065	under	0.053	under

サンプル名	ウサギ		ヒト No.11		ヒト No.12		ヒト No.13	
	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
希釈倍率								
× 5	0.299	1.621	0.156	0.755	0.084	0.171	0.080	0.124
× 25	0.189	0.972	0.095	0.283	0.069	under	0.072	under
× 125	0.116	0.463	0.065	under	0.058	under	0.064	under
× 625	0.078	0.098	0.060	under	0.061	under	0.057	under

サンプル名	ヒト No.14		ヒト No.15	
	A450	ng/ml	A450	ng/ml
希釈倍率				
× 5	0.495	2.671	0.080	0.124
× 25	0.127	0.548	0.067	under
× 125	0.077	0.084	0.057	under
× 625	0.063	under	0.057	under

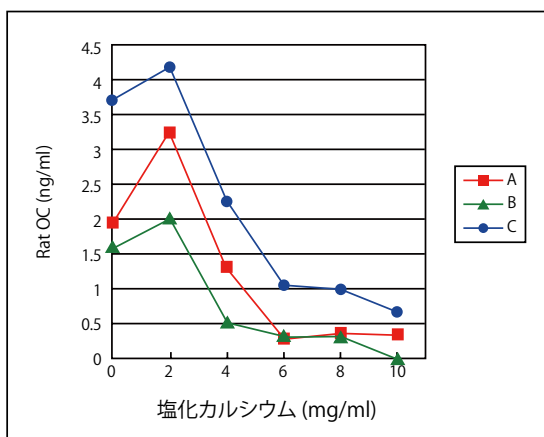
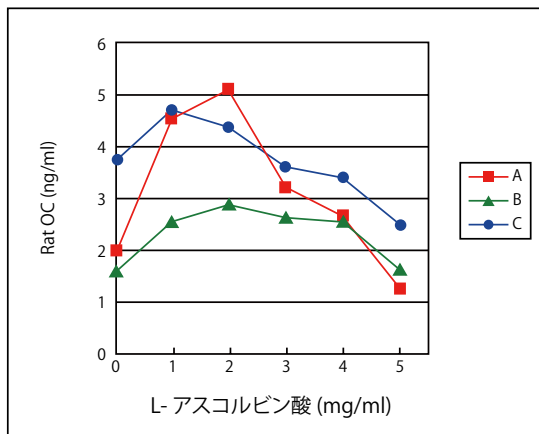
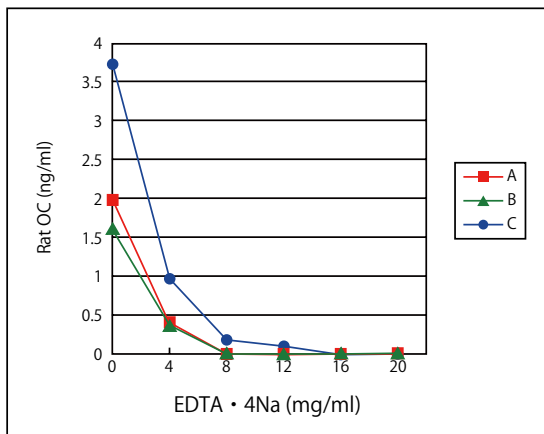
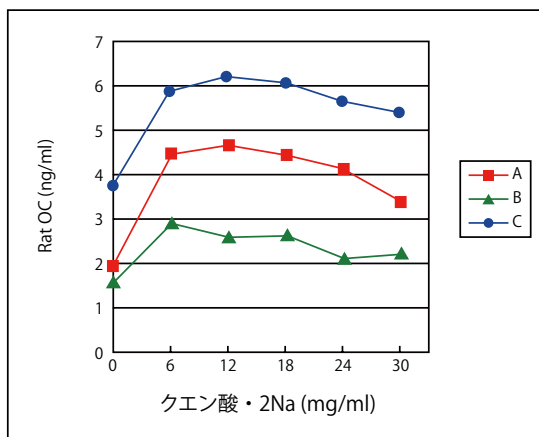
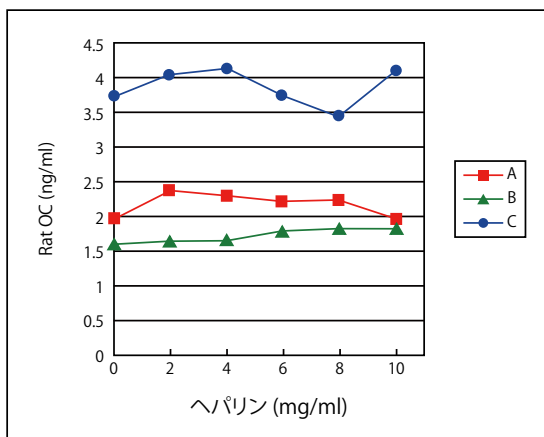
<ラットサンプル>

ラット血清	血清 No.13		血清 No.16		血清 No.17		血清 No.18	
	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
希釈倍率								
× 50	1.226	7.029	0.525	3.133	0.217	1.346	0.198	1.215
× 100	0.662	3.868	0.258	1.605	0.147	0.846	0.122	0.646
× 200	0.324	2.007	0.142	0.810	0.102	0.461	0.087	0.296
× 400	0.177	1.072	0.100	0.447	0.082	0.233	0.070	under

ラット腹水	腹水 No.F2		腹水 No.F3		腹水 No.F4		腹水 No.F5	
	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml	A450	ng/ml
希釈倍率								
× 50	0.347	2.138	0.330	2.043	0.259	1.615	0.308	1.910
× 100	0.195	1.198	0.202	1.244	0.162	0.963	0.173	1.040
× 200	0.124	0.659	0.117	0.598	0.106	0.501	0.113	0.562
× 400	0.092	0.353	0.086	0.290	0.085	0.278	0.094	0.375

3. 共存物質の影響

3種類の濃度のオステオカルシン標準液 (A、B、C) 9容量に対し供試物質1容量を加え、反応系に与える影響をみた。グラフ内の供試物質濃度は終濃度で表わされている。EDTA・4Na および塩化カルシウムが妨害傾向にあるので注意が必要である。



4. Rat Gla-OC High Sensitive EIA Kit (製品コード MK126) と Rat Gla-OC Competitive EIA Kit (製品コード MK121; 終売) との測定比較

ラット血清サンプル 5 種とラット腹水サンプル 2 種を対象に、Rat Gla-OC 競合 ELISA キット (従来品) と本キットとの測定比較を行った。

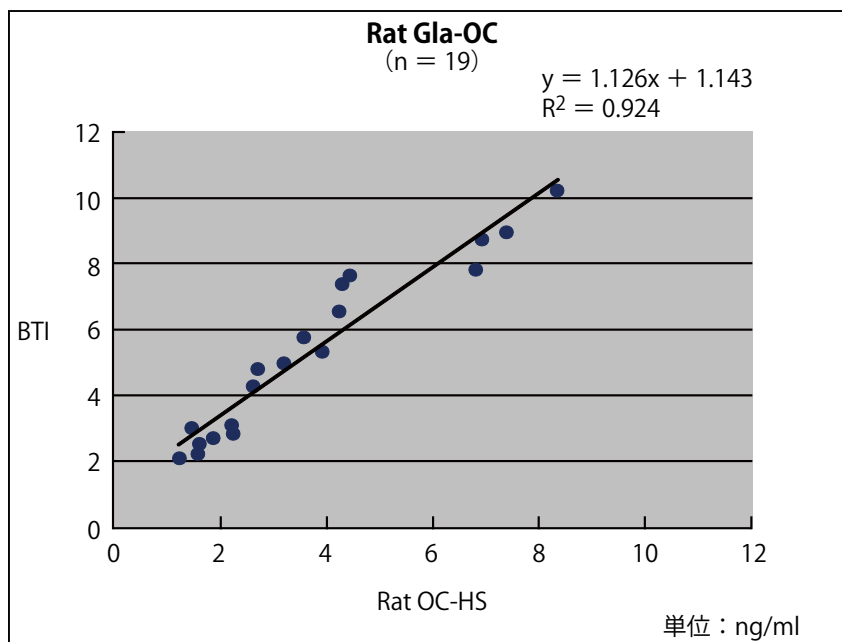
	Rat Gla-OC HS Kit (製品コード MK126)	Rat Gla-OC Competitive EIA Kit
測定時倍率	25 倍希釈	原液測定
濃度 (原液換算)	ng/ml	ng/ml
血清 No. 12	369	400
No. 13	353	1100
No. 15	294	316
No. 16	137	426
No. 17	84	710
腹水 No. 1	102	216
No. 2	116	368

結果：

両キットでの測定値が近似するサンプルと大きく乖離するサンプルが存在している。測定対象としている Gla 型オステオカルシンの分子種の差に起因している可能性がある。

5. 他社キットとの相関

19 検体のラット血清サンプルを対象に他社キットと本キットとの同時測定を行った。測定に使用した他社キットでは、Gla、Glu 型を総括したトータルオステオカルシン量を測定するものである。



結果：ほぼ正の相関性を得た。

6. サンプルの溶血の影響

個体別に採取したラット血液を2等分し、一方はすぐに遠心後、血清採取し、もう一方は数回、注射針を通過させることにより意図的に溶血を起こしてから遠心後、血清を採取した。すべてのサンプルは同時に定量した。最適希釈倍率を見つけるために、10倍希釈から段階希釈液を作製し(10、20、40、80倍)定量した。またRat Glu-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (製品コード MK146)でも同時測定し、両キットにおける溶血の影響の有無を調べた。

本製品では血清40倍希釈液の測定値、製品コードMK146では血清20倍希釈液の測定値を示す。

キット	MK126 Rat Gla-OC		MK146 Rat Glu-OC	
測定倍率	40倍希釈サンプル		20倍希釈サンプル	
サンプル条件	正常血清	溶血血清	正常血清	溶血血清
	血清濃度換算値 (ng/ml)			
4週ラット1	448.9	158.5	56.1	15.8
4週ラット2	247.4	45.0	38.4	3.9
4週ラット3	331.7	17.0	40.5	感度以下
4週ラット4	549.0	9.8	79.5	感度以下

結果：

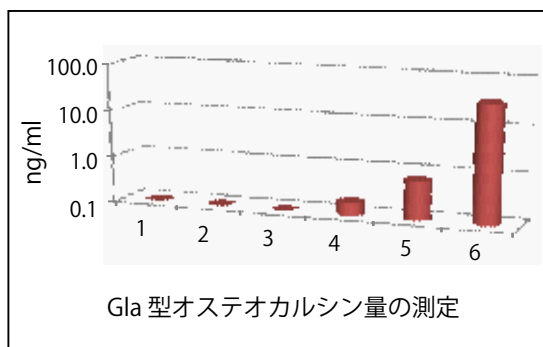
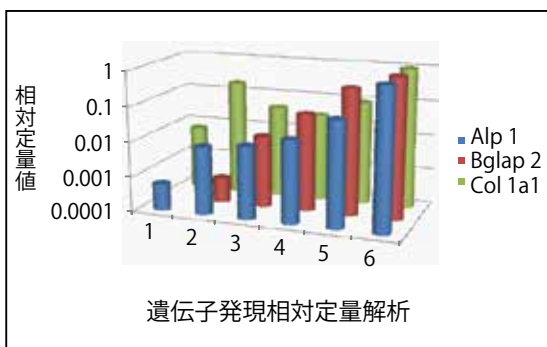
Gla型/Glu型両オステオカルシン測定は、すべての個体において、溶血の影響により極端に低値になる傾向が見られた。

溶血血清は測定対象から除外するまたは定量結果について溶血要因を考慮に入れることをお勧めする。

7. 培養細胞上清中のGla型オステオカルシンモニタリング例

4週齢ラット骨髄細胞(SDラットオス由来(製品コードMK433;販売終了))の自然分化細胞と、骨芽誘導試薬を添加し、強制分化培養を行った骨髄由来細胞の培養上清中に産生されるGla型オステオカルシン量を本キットを用いて測定を行った。タンパク質側からのモニタリングを補強する目的で、サンプリング時に培養細胞からトータルRNAの調製を行い、インターカレーター法のリアルタイムPCRによるmRNAレベルでの発現モニタリングも3種の遺伝子に対して同時に行った(ALP:アルカリホスファターゼ、Bglap2: Bone Gla Protein = Osteocalcin、col1a1: I型コラーゲン α 1鎖)。

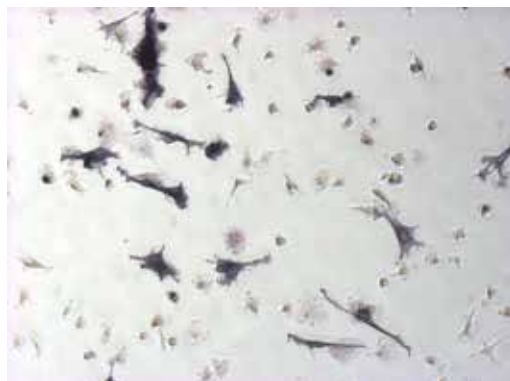
各分化ステージにサンプリングした培養上清は、ウシ胎児血清(ウシ由来オステオカルシン)含有物であったが、固相抗体がラットオステオカルシン特異的であるため、そのままダイレクトに本キットで原液測定を行うことができた。



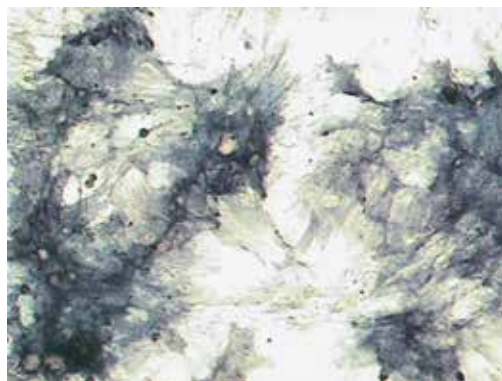
使用試薬：TB Green® *Premix Ex Taq*™ II (Perfect Real Time)
 装置：Thermal Cycler Dice® Real Time System
 プライマー：Perfect Real Time サポートシステムの
 プライマーを使用 (col1a1 を除く)

測定サンプル一覧			Realtime Assay mRNA 相対定量値			EIA 培養上清 (ng/ml)
stage			Alp 1	Bglap 2	Col 1a1	Rat Gla-OC
1	BM4W day4	骨髓細胞の培養 4 日目	0.0006		0.007	0.000
2	BM4W OB-S1	骨髓細胞の培養 10 日目 (自然分化)	0.009	0.0005	0.19	0.000
3	BM4W OB-L1	骨髓細胞の培養 9 日後 + 骨芽誘導 7 日目	0.012	0.011	0.044	0.000
4	BM4W OB-L2	骨髓細胞の培養 9 日後 + 骨芽誘導 10 日目	0.023	0.063	0.032	0.189
5	BM4W OB-L3	骨髓細胞の培養 9 日後 + 骨芽誘導 12 日目	0.1	0.4	0.092	0.692
6	BM4W OB-L4	骨髓細胞の培養 <u>3 日後</u> + 骨芽誘導 13 日目	1.0	1.0	1.0	33.6

アルカリ性ホスファターゼ染色結果



Stage 1 (培養 4 日目)



Stage 5 (骨芽誘導 10 日目)

アルカリ性ホスファターゼ染色には、TRACP & ALP double-stain Kit (製品コード MK300) を使用した。

8. ラット血清測定例

新生ラットおよび高齢のリタイアラットの個体別血清で Glu (不活性型) および Gla (活性型) 両タイプのオステオカルシンを数週間測定モニタリングを行った。

測定にあたって、血清サンプルの最適希釈倍率を見つけるために、新生ラット血清では 20 倍希釈と 60 倍希釈、リタイアラット血清では 10 倍希釈と 30 倍希釈の 2 濃度で測定を実施した。Glu および Gla 測定換算においては、検量線測定範囲に入る倍率を採用した。表内の数字は、希釈倍率を乗じた換算濃度である。

新生ラット	MK126					MK146				
		Rat Gla-OC EIA Kit				Rat Glu-OC EIA Kit				
週齢	測定倍率	オス No. 1	オス No. 2	メス No. 1	メス No. 2	測定倍率	オス No. 1	オス No. 2	メス No. 1	メス No. 2
3 週	x 20	12.4	—	231.5	—	x 20	0.9	—	25.1	—
4 週	x 60	275.2	—	1389.2	—	x 20	33.6	—	62.0	—
5 週	x 60	277.6	—	375.3	—	x 20	40.1	—	48.2	—
6 週	x 60	445.0	380.6	143.7	372.5	x 20	71.8	52.2	20.1	43.1
7 週	x 60	235.3	357.0	178.3	494.6	x 20	40.0	52.5	26.0	56.5
8 週	x 60	351.4	356.2	530.1	840.2	x 20	64.5	48.0	61.4	74.5
9 週	x 60	180.5	272.1	301.9	154.0	x 20	28.5	43.4	44.0	23.2

リタイアラット

週齢	測定倍率			メス No. R1	メス No. R2	測定倍率			メス No. R1	メス No. R2
21 週	x 30			199.7	79.8	x 10			10.2	13.3
25 週	x 10			52.3	55.2	x 10			5.3	5.7
29 週	x 10			9.1	29.5	x 10			1.6	3.2
33 週	x 10			80.9	38.8	x 10			7.8	4.0

単位：ng/ml

結果：

新生ラットで採血可能な時期が 3 週目からのため、1～2 週齢のサンプリングは実施していない。新生から 6 週齢ぐらいまでは、著しくオステオカルシン値が Gla/Glu 共に高く、骨代謝回転が盛んに活性化している様子がうかがえる。骨髄において、造血幹細胞からの破骨細胞の分化と間葉系幹細胞から骨芽細胞への分化がともに盛んに進んでいる時期であると予想される。

IX. 関連製品

Rat Glu-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (製品コード MK146)
骨芽細胞分化試薬 OsteoblastInducer Reagent (for animal cell) (製品コード MK430)
TRACP & ALP double-stain Kit (製品コード MK300)
TRACP & ALP Assay Kit (製品コード MK301)
Wash and Stop Solution for ELISA without Sulfuric Acid (製品コード MK021)

X. 使用上の注意

1. ロット番号の異なるキットの試薬を混ぜて使用しないでください。
2. 保存もしくは反応中に試薬を強い光に当てないでください。
3. (5) Substrate Solution (TMBZ) および反応停止液に用いるピペット等は金属が使われていないものを用いてください。
4. (5) Substrate Solution (TMBZ) や反応停止液は手や粘膜につかないようご注意ください。
5. 着色した (5) Substrate Solution (TMBZ) は使用しないでください。
6. 各反応は時間、温度の影響を受けるので測定ごとに標準曲線を作成してください。
7. 血液検体の取扱いには充分注意してください。

XI. 注意

- ・本製品は研究用試薬です。ヒト、動物への医療、臨床診断には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
- ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
- ・ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
- ・Thermal Cycler Dice、TB Green はタカラバイオ株式会社の登録商標です。*Premix Ex Taq* はタカラバイオ株式会社の商標です。その他、本説明書に記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

製品についての技術的なお問い合わせ先

テクニカルサポートライン

Tel 077-565-6999 Fax 077-565-6995

ウェブサイト <http://www.takara-bio.co.jp>

タカラバイオ株式会社