

Code No. MK430

研究用

TaKaRa

Osteoblast-Inducer Reagent
(for animal cell)

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 试剂盒外必备实验材料	1
● 使用方法	1
● 使用例	2
● 关联产品	3

● 制品说明

成骨细胞 (osteoblasts) 是由间质干细胞分化而成的骨形成细胞。破骨细胞 (Osteoclasts) 作为骨吸收的主要细胞, 与成骨细胞共同构成骨组织。破骨细胞与成骨细胞在功能上相对应, 二者协同, 在骨骼的发育和形成过程中发挥重要作用。骨组织中骨吸收和骨形成的平衡是维持骨强度和弹性的关键。

本制品是成骨细胞分化诱导剂, 制品中含有抗坏血酸、氢化可的松和 β -磷酸甘油。将抗坏血酸、氢化可的松和 β -磷酸甘油添加到培养基后, 可高效诱导骨髓来源干细胞、脂肪来源干细胞 (脂肪间质干细胞) 分化为成骨细胞。

● 制品内容 (培养基 500 ml 用)

Ascorbic Acid	5 ml
Hydrocortisone	1 ml
β -Glycerophosphate	5 ml \times 2

● 保 存: -20°C

● 试剂盒外必备实验材料

- RPMI 1640 培养基 · 含谷氨酰胺
- 灭活的胎牛血清
- 抗生素 (青霉素 · 链霉素)
- 70%酒精
- 灭菌移液枪
- 贴壁细胞用培养皿、multi-plates

● 使用方法

1. 培养基的制备

- 分化诱导剂请自然解冻或 37°C 加热解冻。
- 装有培养基和分化诱导剂的试剂瓶的表面用 70%酒精喷雾消毒或用 70%酒精棉球擦拭。
- 在超净台内向细胞中添加 (1) Ascorbic Acid、(2) Hydrocortisone、(3) β -Glycerophosphate, 其添加体积分别为 1% (v/v)、0.2% (v/v)、2% (v/v)。

例) 制备 100 ml 成骨细胞分化培养基时

(1) Ascorbic Acid	1 ml
(2) Hydrocortisone	200 μ l
(3) β -Glycerophosphate	2 ml

* 在培养基中添加分化诱导剂后 4°C 可保存 2 个月, 性能稳定。

2. 诱导分化

<小鼠/大鼠/兔骨髓细胞>

- (1) 制备成骨细胞分化培养基。
- (2) 细胞培养 3~7 天后[在显微镜下确认细胞已附着和铺展在培养皿的底部], 吸除培养基, 添加成骨细胞分化培养基。
- (3) 在 37°C 、5% CO_2 的培养箱内培养 14~21 天。
- (4) 每 7~14 天全量更换一次培养基。

<MC3T3-E1 [小鼠头盖骨来源细胞]>

- (1) 制备成骨细胞分化培养基。
- (2) 将细胞培养 1~3 天后[确认细胞已附着和铺展在培养皿的底部]，吸除培养基，添加成骨细胞分化培养基。
- (3) 在 37°C、5%CO₂ 的培养箱内培养 10~21 天。
- (4) 每 3~7 天全量更换一次培养基。

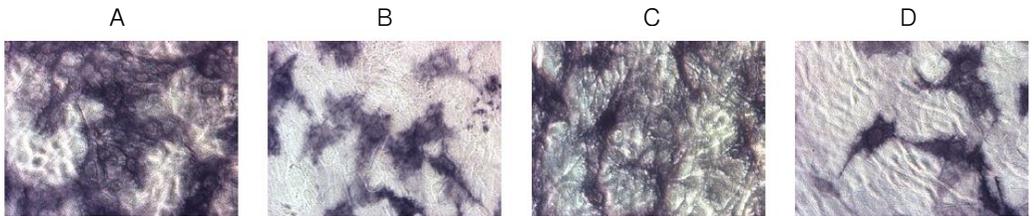
* 建议准备没有添加成骨细胞诱导分化剂的细胞作为对照，用于比较诱导分化的成骨细胞的形态变化。

● 使用例

1. 细胞染色

将 MC3T3-E1 [小鼠头盖骨来源细胞]细胞培养后，在分别添加了 (1) Ascorbic Acid、(1) Ascorbic Acid 和 (2) Hydrocortisone、(1) Ascorbic Acid 和 (3) β-Glycerophosphate、(1) Ascorbic Acid 和 (2) Hydrocortisone 和 (3) β-Glycerophosphate 的分化培养基中分化诱导 3 天后，进行了碱性磷酸酶染色。

- A. (1) Ascorbic Acid
- B. (1) Ascorbic Acid和 (2) Hydrocortisone
- C. (1) Ascorbic Acid和 (3) β-Glycerophosphate
- D. (1) Ascorbic Acid, (2) Hydrocortisone 和 (3) β-Glycerophosphate



碱性磷酸酶染色时使用了 TRACP & ALP double-stain Kit (Code No. MK300)

2. 培养上清液中骨钙素的测定

将正常大鼠骨髓细胞 (8 周龄 雄性) 按 1×10^6 cells/well 播种于 24 well plate，培养 4 天后，在培养基中添加如下物质进行诱导分化：

[1] (1) Ascorbic Acid + (2) Hydrocortisone + (3) β-Glycerophosphate。

[2] Ascorbic Acid

不同时间采取上清液后，利用 ELISA 法的 Rat Gla-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit(Code No. MK126)进行上清液中的骨钙素测定。

注意：诱导分化开始日为 day 0。

并同时使用 TRACP & ALP double-stain Kit (Code No. MK300)进行了碱性磷酸酶染色。

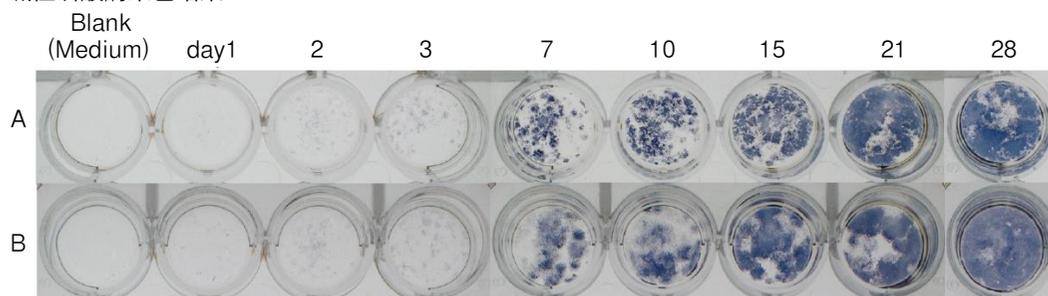
骨钙素的测定

[A450]

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

测定骨钙素时使用了 Rat Gla-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (Code No. MK126) 。成骨细胞分泌的骨钙素蛋白可在诱导分化的细胞培养上清液中检出。

碱性磷酸酶染色结果



碱性磷酸酶染色时使用了 TRACP & ALP double-stain Kit (Code No. MK300)

● 关联产品

TRACP & ALP double-stain Kit (Code No. MK300)

TRACP & ALP Assay Kit (Code No. MK301)

Gla-Type Osteocalcin (Gla-OC) EIA Kit (Precoated) (Code No. MK111)

Rat Gla-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (Precoated) (Code No. MK126)

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经TAKARA BIO INC.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 TAKARA BIO INC.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686
4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takara.com.cn>