

### 骨吸収活性評価プレート BONE RESORPTION ASSAY PLATE

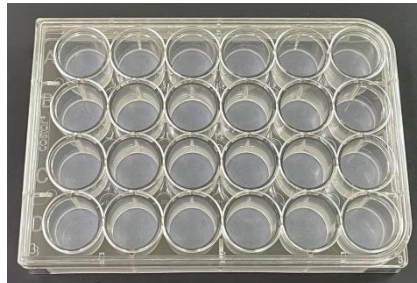
本製品は、合成リン酸カルシウムを固層化したプレートで、培養破骨細胞による骨吸収活性の評価が可能です。天然のアパタイトに類似したリン酸カルシウムを固層化していますので、象牙切片的の代替品としてご使用いただけます。

#### 1) 仕様

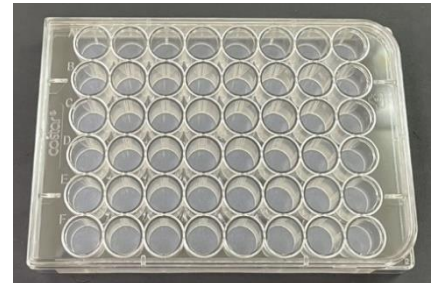
- A : 骨吸収活性評価プレート 4 (BRA-4P、 $\gamma$ 線滅菌済) 1枚
- B : 骨吸収活性評価プレート 24 (BRA-24P、 $\gamma$ 線滅菌済) 1枚
- C : 骨吸収活性評価プレート 48 (BRA-48P、 $\gamma$ 線滅菌済) 1枚
- D : 骨吸収活性評価プレート 96 (BRA-96P、 $\gamma$ 線滅菌済) 1枚
- E : 骨吸収活性評価プレート S96 (BRA-S96P、8-well ストリップ、 $\gamma$ 線滅菌済) 1枚



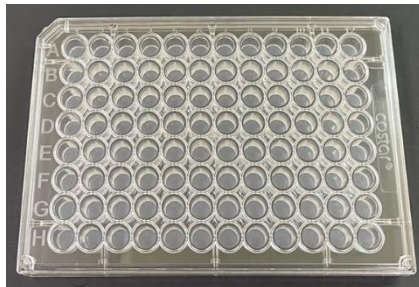
A : BRA-4P



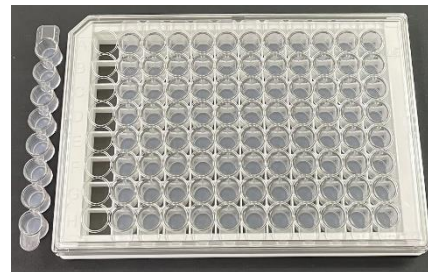
B : BRA-24P



C : BRA-48P



D : BRA-96P



E : BRA-S96P

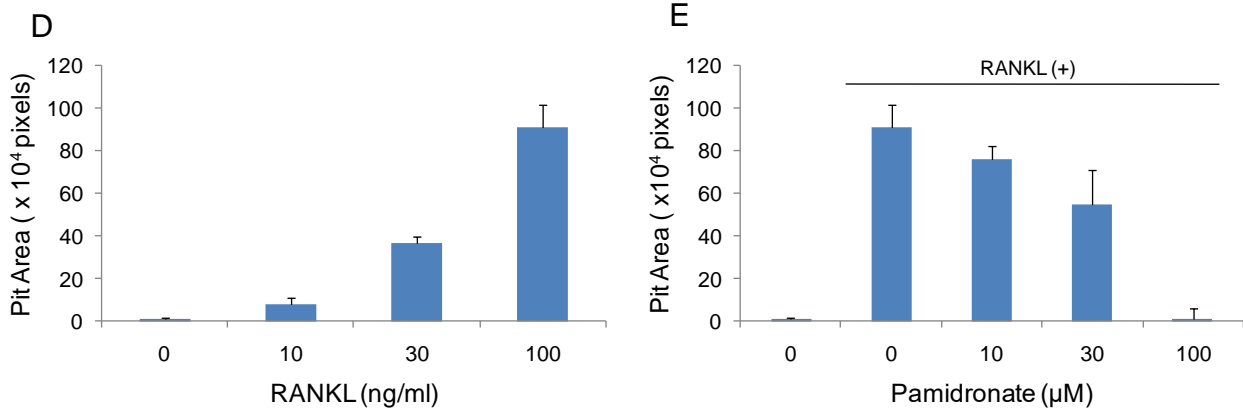
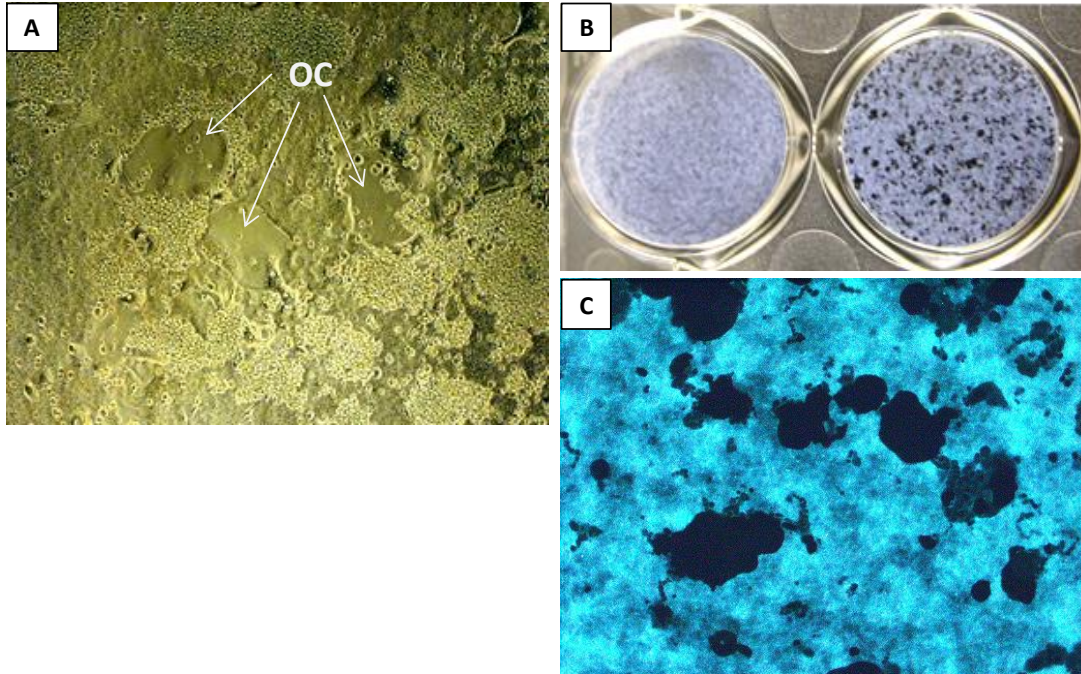
#### 2) 使用例

- (1) A : 骨吸収活性評価プレート 4 (BRA-4P)の各 well を 1mL の血清含有培地で洗浄する。  
 B : 骨吸収活性評価プレート 24 (BRA-24P)の各 well を 1mL の血清含有培地で洗浄する。  
 C : 骨吸収活性評価プレート 48 (BRA-48P)の各 well を 0.5mL の血清含有培地で洗浄する。  
 D : 骨吸収活性評価プレート 96 (BRA-96P)の各 well を 0.2mL の血清含有培地で洗浄する。  
 E : 骨吸収活性評価プレート S96 (BRA-S96P)の各 well を 0.2mL の血清含有培地で洗浄する。
- (2) RAW264 あるいは RAW264.7 細胞を血清含有培地 (例えば 10~20%FBS を含む DMEM/F-12、MEM $\alpha$  など) で播種する。同時に、破骨細胞分化誘導剤である RANKL(100ng/mL)および評価する薬剤を添加する。  
 A : 4well プレート 1x10<sup>4</sup>cell/1mL 培地/well  
 B : 24well プレート 1x10<sup>4</sup>cell/1mL 培地/well  
 C : 48well プレート 5x10<sup>3</sup>cell/0.5mL 培地/well  
 D : 96well プレート 2x10<sup>3</sup>cell/0.2mL 培地/well  
 E : 96well プレート 2x10<sup>3</sup>cell/0.2mL 培地/well
- (3) 培養 3 日目に新しい培地に交換する (RANKL、薬剤含有培地、省略可能ですが pit 形成能が低下します)。
- (4) 培養 5~6 日目に、pit の面積を測定する。まず、培地を除き、5%次亜塩素酸ナトリウムを 0.2~0.5mL 添加して、3~5 分間放置することにより細胞を除去する (リン酸カルシウムが剥がれることがありますので、5%次亜塩素酸ナトリウム中で 5 分以上放置しないで下さい)。水道水を入れたバットにプレートを浸し、数回洗浄後、純水でリンスして、乾燥させる。
- (5) pit の写真を撮影し、画像解析ソフトを用いて pit 面積を測定する。

### 3) 注意事項

- (1) プラスチックプレートを用いた一般的な破骨細胞誘導系よりも、高濃度の分化誘導剤（RANKL 等）をご使用下さい。
- (2) 本品は研究用試薬であり、医薬品その他の目的にはご使用になれません。

### 4) 参考データ



- A) RAW264 細胞の位相差顕微鏡写真。  
RANKL(100ng/mL)、6 日間の培養で、破骨細胞様細胞 (OC) が形成される。
- B) 細胞除去後のプレートの写真。肉眼により pit の観察が可能。
- C) プレートを顕微鏡下にて撮影。黒い部分が形成された pit である。
- D) RANKL 濃度依存的な pit の形成 (平均±標準偏差、n=3)。
- E) pit 形成に対するビスフォスフォネート (Pamidronate) の抑制作用。