

β-Galactosidase Staining Kit에 의한 β-Gal reporter 유전자의 세포내 발현 검출

β-Galactosidase Staining Kit

TaKaRa Code V2600 100 assays

PanVera사의 제품입니다.

유전자 도입법의 발달로 다양한 세포에 쉽고 높은 재현성으로 유전자를 도입할 수 있게 되었으나,

유전자의 도입방법과 세포의 종류에 따라 도입효율은 커다란 차이가 있다.

도입효율을 정확하게 확인하기 위해서는 표적세포에서 유전자의 발현양을 조사 해야 한다.

β-Galactosidase Staining Kit는 세포 내에 도입한 β-Gal reporter 유전자의 발현을 각 세포에서 관찰하여

도입효율을 쉽고 확실하게 조사할 수 있는 제품이다.

또 *in vivo* 도입실험 후 조직표본의 면역화학염색에도 쉽게 이용할 수 있다.

β-Gal 유전자를 코드하고 있는 재조합 adenovirus를 배양세포로 감염시켜 그 유전자 도입효율을

β-Galactosidase Staining Kit를 이용하여 조사한 예를 소개한다.

Kit의 내용

Cell Fixative Reagent	8 ml
Cell Staining Solution	200 ml
X-Gal Reagent	2 ml

■ 실험예: β-Galactosidase Staining Kit로 β-Gal 유전자 발현 검출

【방법】

배양세포 CV-1을 24 well plate에 seeding하고 다음날 β-Gal 유전자를 코드하는 재조합 adenovirus AxCAiLacZ를 감염다중도(m.o.i)=10으로 감염하여 2일간 배양하였다. β-Galactosidase Staining Kit로 이 세포의 β-Gal 발현을 확인하였다.

시약 준비

1. Cell Fixative Reagent를 PBS(-)로 25배 희석하여 Cell Fixative Working Solution으로 사용한다.
2. X-Gal Reagent를 Cell Staining Solution로 50배 희석하여 Cell Staining Working Solution으로 사용한다.

세정

1. 24 well plate의 각 well의 배지를 제거한다.
2. 각 well을 1 ml의 PBS(-)로 2회 세정한다.

세포 고정

1. 각 well에 Cell Fixative Working Solution 0.5 ml을 첨가한다.
2. 실온에 5분간 정치한다.

세정

1. Cell Fixative Working Solution을 제거한다.
2. 각 well을 1 ml PBS(-)로 3회 세정한다.

염색

1. 각 well에 0.5 Cell Staining Working Solution 0.5 ml을 첨가한다.
2. 현미경으로 관찰한다.

현미경 관찰

1. 각 well의 Cell Staining Working Solution을 제거한 후, 1 ml PBS(-)를 첨가한다.
2. 현미경으로 관찰한다.

■ 결과

β-Galactosidase Staining Kit를 사용하여 염색한 결과, AxCAiLacZ 감염시킨 CV1 세포는 거의 100%가 청색으로 염색되어 대부분의 세포에서 β-Gal이 발현하는 것을 확인하였다(그림 1).

비감염 CV1세포에서는 β-Gal이 발현되지 않았다(그림 2).

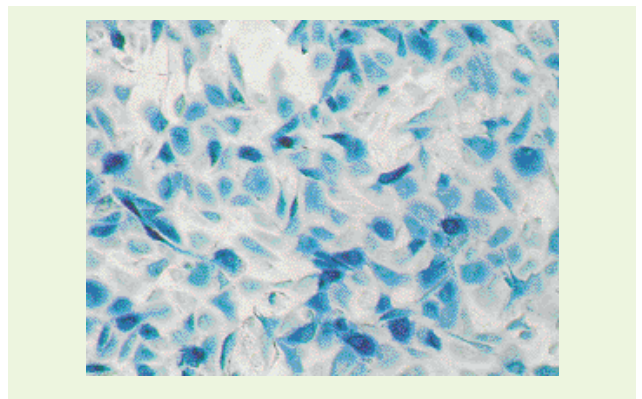


그림 1 β-Galactosidase Staining Kit로 AxCAiLacZ 감염 CV1세포의 염색 발현된 세포는 청색으로 염색된다.

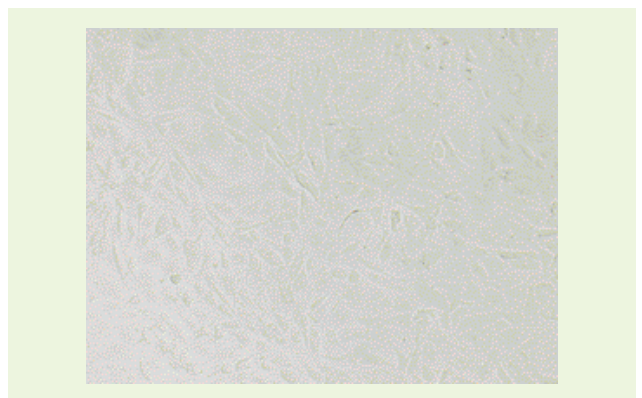


그림 2 β-Galactosidase Staining Kit로 비감염 CV1 세포의 염색 청색으로 염색된 세포가 거의 없어 β-Gal이 발현되지 않았다.