

細胞内滞留型 β -ガラクトシダーゼ検出プローブ SPiDER- β Gal

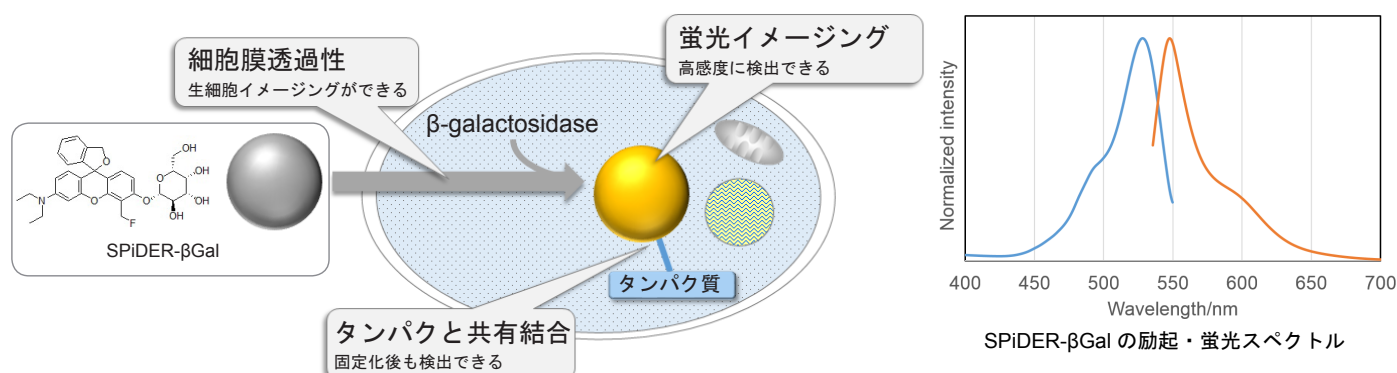
新製品

- ・ 生きた細胞・組織を蛍光イメージング
- ・ 固定化前後での蛍光染色が可能
- ・ 細胞内滞留型プローブによる一細胞レベルでの解析を実現

はじめに

大腸菌由来の β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (lacZ) は、レポータージーンアッセイマーカーとして幅広く用いられている。代表的な β -ガラクトシダーゼの検出方法として、X-gal 染色が広く利用されているが、細胞膜透過性が乏しいため、細胞や組織を固定化する必要がある。また、従来の β -ガラクトシダーゼ検出蛍光試薬は細胞内滞留性が低いため、 β -ガラクトシダーゼ未発現細胞と発現細胞を明瞭に区別できないことが課題であった。

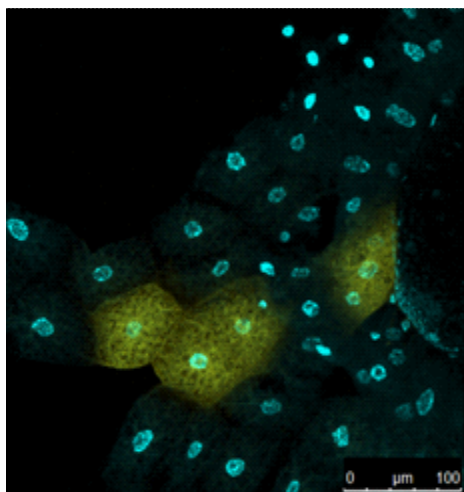
これらの課題を克服するため、浦野、神谷らは細胞膜透過性と細胞内滞留性を有する新たな蛍光試薬 SPiDER- β Gal の開発に成功した¹⁾。本試薬は、 β -ガラクトシダーゼとの酵素反応により、キノンメチドと呼ばれる中間体を形成して、近傍のタンパク質中の SH 基等の求核性基と安定な共有結合を形成し、蛍光性になる。このように、反応した試薬が細胞内タンパク質に固定化されることで優れた細胞内滞留性を有し、その結果、 β -ガラクトシダーゼ発現細胞を一細胞レベルで明確に検出することが可能となる。



- 1) T. Doura, M. Kamiya, F. Obata, Y. Yamaguchi, T. Y. Hiyama, T. Matsuda, A. Fukamizu, M. Noda, M. Miura, Y. Urano, "Detection of LacZ-Positive Cells in Living Tissue with Single-Cell Resolution.", *Angew Chem Int Ed Engl.*, **2016**, 55, 9620.
- 2) H. Omori, S. Ogaki, D. Sakano, M. Sato, K. Umeda, N. Takeda, N. Nakagata, S. Kume, "Changes in expression of C2cd4c in pancreatic endocrine cells during pancreatic development.", *FEBS Lett.*, **2016**, 590, 2584.

組織染色例

ショウジョウバエ組織の Live イメージング



未固定のショウジョウバエ組織を 10 μ mol/l SPiDER- β Gal と 16 μ mol/l Hoechst 33342 にて 20-30 分間染色後、共焦点顕微鏡にて観察。

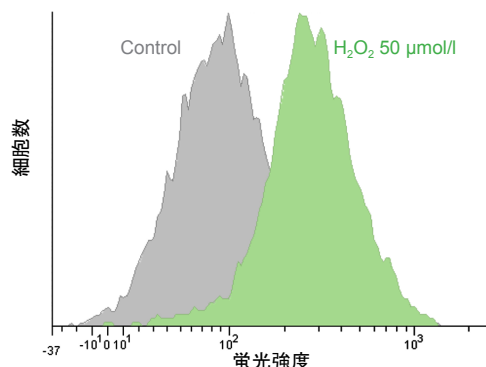
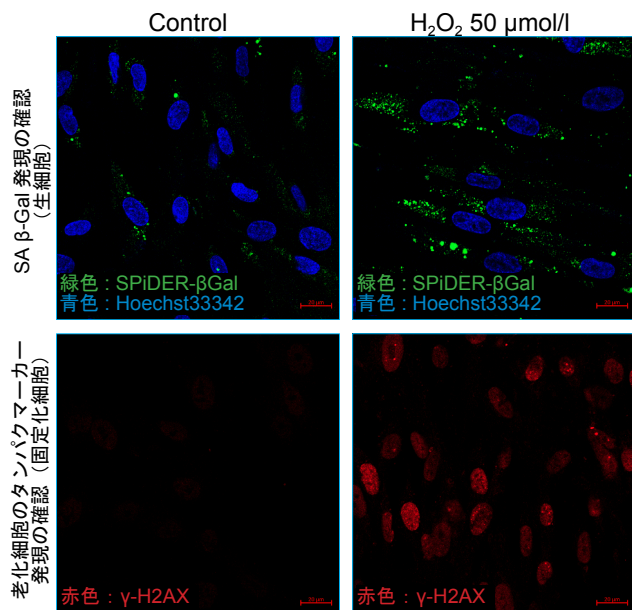
黄色 : SPiDER- β Gal
青色 : Hoechst 33342

SPiDER- β Gal の細胞内での高い滞留性により隣接する細胞には、全くにじみ出ることなく、 β -ガラクトシダーゼ発現細胞のみを一細胞レベルで染色できた。

(データ提供 : 東京大学大学院医学系研究科 浦野泰照教授)

老化細胞染色例

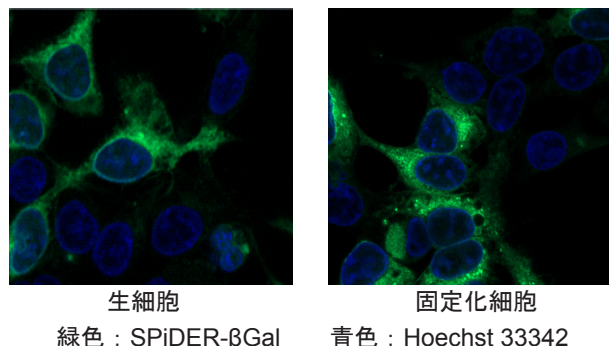
H₂O₂ により老化誘導した WI-38 細胞を蛍光顕微鏡およびフローサイトメトリーにより解析



蛍光顕微鏡下にて、老化誘導した生細胞における細胞老化マーカーの一つ SA β-Gal の顕著な発現を SPiDER-βGal の蛍光により観察。(左図の上段) 別の細胞老化マーカーと相関する結果も確認できた。(左図の下段) フローサイトメトリーでは、老化誘導による SA β-Gal 発現の増加を SPiDER-βGal の蛍光強度の変化で確認できた。(右図)

測定例

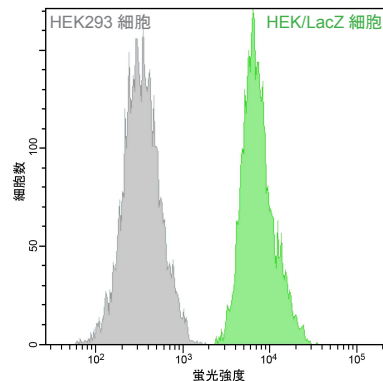
固定化細胞のイメージング



HEK293 細胞および β-ガラクトシダーゼ安定発現 HEK/LacZ 細胞を 1:1 となるよう混合培養し、固定化前後で SPiDER-βGal による染色を行い共焦点顕微鏡で観察。結果、SPiDER-βGal の膜透過性と細胞内滞留性により固定化前後の蛍光イメージングができた。

測定例

フローサイトによる生細胞の測定



HEK293 細胞および β-ガラクトシダーゼ安定発現 HEK/LacZ 細胞を 1:1 となるよう混合培養し、SPiDER-βGal による染色後にフローサイトメトリーにて検出。SPiDER-βGal の高感度検出により β-Galactosidase 安定発現株を分別できた。

アプリケーション

最新の測定データやアプリケーション、論文情報を小社 HP にて掲載。
ご興味のある方は、小社 HP にて最新情報をご確認下さい。

同仁化学 SPiDER

検索



品 名
SPiDER-βGal

容 量
20 μg x 3

希望納入価格
¥42,000

メーカーコード
SG02

1) 記載価格は本体価格のみで、消費税等は含まれておりません。 2) 記載価格はこのパンフレット編集時 (2016 年 10 月) における希望納入価格です。予告無しに変更する場合がございますのでご注意ください。
3) 試験・研究用のみに使用するものです。医療用その他の目的には使用できません。

試薬を通して研究をサポート

DOJINDO

委託製造元・国内問い合わせ先

株式会社 同仁化学研究所
TEL 096-286-1515 (代表) FAX 096-286-1525
ドージン・イースト (東京)
TEL 03-3578-9651 (代表) FAX 03-3578-9650

URL <http://www.dojindo.co.jp/>

E-mail info@dojindo.co.jp