

TokyoGreen[®]-βGal

表 1. 製品情報

品番	品名	容量	保存	安定性
SK4001-01	TokyoGreen [®] -β Gal	1 mg (DMSO 0.4 mL 中)	遮光冷凍保存	未開封で1年

1. はじめに

TokyoGreen[®]-βGal は、β-ガラクトシダーゼ活性を検出するための蛍光プローブです。細胞膜透過性が高いため、生細胞を固定、溶解、膜透過処理などを行うことなく lacZ 遺伝子の発現を検出できます。遺伝子導入法の検討、導入遺伝子発現のコントロール、クローニング細胞のスクリーニング等に有用です。

無蛍光性の TokyoGreen[®]-βGal は β-ガラクトシダーゼ産生細胞に取り込まれたのち、β-ガラクトシダーゼにより加水分解を受け、蛍光最大波長 510 nm の緑色蛍光を発する TokyoGreen[®] を生成します。この TokyoGreen[®]も細胞膜透過性が高く、細胞膜を透過して反応バッファーに均一に拡散し、励起光を照射すると反応バッファー全体が緑色蛍光を発します

2. 測定波長と分子量

励起波長 490 nm 蛍光波長 510 nm (緑色)

3. 特長

- 1) 生細胞中の β-ガラクトシダーゼ活性を緑色蛍光として高感度で検出できます。
- 2) TokyoGreen[®]-βGal は細胞膜透過性です。このため従来の ONPG を用いた呈色反応のように細胞を溶解する必要がありません。2 ウェル培養は不要です。
- 3) 反応バッファー全体から均一に蛍光が得られるため、蛍光分光光度計、蛍光プレートリーダーによる測定も可能です。
- 4) 反応後、数回培地交換することで検出に用いた試薬が細胞内から除去されますので、β-ガラクトシダーゼ活性を測定後、引き続き培養を継続できます。

4. 使用上の注意

- 1) 希釈液は要時調製し、使い切りとします。
- 2) 開封後は原則として使い切りを推奨します。凍結融解の繰り返しは品質低下につながりますのでご注意ください。
- 3) 希釈バッファーは、pH 7-7.5 のものをご使用ください。酸性条件では蛍光が弱くなる性質があります。また、牛精製アルブミン (BSA)、フェノールレッドなどにより蛍光強度に影響することがありますのでご注意ください。
- 4) 本品はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解されており、危険物第四類 第三石油類 危険等級 III (水溶性) に該当します。火気を避けて保管してください。

5. 試薬の調製例

本品は 5 mM 溶液です。使用時にリン酸バッファー (0.1 M pH 7.4) 等で 500 倍 (10 μ M) 程度に希釈してお使いください。

* 希釈バッファーおよび使用濃度につきましては、目的の用途に応じて検討してからご使用ください。

■ 使用例

TokyoGreen[®]- β Gal を用いたクローニングアッセイ

- 1) *lacZ* 遺伝子を含む遺伝子を導入を行った細胞を限外希釈し、マイクロタイタープレートに播種し (1 細胞 / ウェル以下になる様に播種) 培養します。
- 2) TokyoGreen[®]- β Gal (5 mM DMSO 溶液) を PSS (physiological salt solution : 150 mM NaCl, 4 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5 mM HEPES, 0.1 % glucose, pH7.4) で終濃度が 10 μ M になるように 500 倍希釈し、TokyoGreen[®]- β Gal 希釈液を調製します。
- 3) 培養した細胞の培地を吸い取り、TokyoGreen[®]- β Gal 希釈液を (10 μ M) をアプライし、蛍光の継時変化を蛍光プレートリーダーで測定します (15 分から 3 時間程度)。
- 4) 蛍光上昇を示したウェルが遺伝子導入された *lacZ*(+) 細胞のクローンです。

6. 参考文献

1. Y. Urano, M. Kamiya, K. Kanda, T. Ueno, K. Hirose, T. Nagano *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 4888–4894 (2005).
2. “バイオイメージングとケミカルバイオロジー” 長野哲雄、浦野泰照、神谷真子、細胞工学、**24**(11), 1187-1191 (2005).