

EXPLICACIÓN DE X-GAL COMO SELECTOR

Los genes reporteros se utilizan para verificar la transformación de microorganismos, así como para evaluar la expresión génica en el desarrollo prenatal. Entre los diferentes sistemas para corroborar la expresión de genes, se encuentra la tinción x-gal o LacZ, misma que presenta una alta eficiencia y sensibilidad.

Un requisito previo es la creación o adquisición de líneas transgénicas, en las que el gen bacteriano LacZ ha sido eliminado en el gen de interés o puesto bajo el control de los elementos reguladores correspondientes al gen de interés. La expresión está marcada por una mancha azul oscuro y puede detectarse a nivel de una sola célula, proporcionando una lectura visual robusta de la expresión génica.

La tinción se basa en la presencia del gen LacZ obtenido de bacterias, que codifica para la β -galactosidasa incluido en el vector que se introducirá al organismo diana y que es capaz de hidrolizar el sustrato 5-bromo-4-cloro-3-indolil β -D-galactopiranosida (X-gal) que produce un precipitado color azul.

Cuando se transforman las células sin LacZ, se les introduce un vector que contiene este gen (que funcionará como gen reportero) más el gen de interés. Las células se pondrán a crecer en un medio con X-gal y las que no hayan aceptado el vector en su genoma no expresarán β -galactosidasa, por lo que no hidrolizarán el sustrato y se teñirán de azul, mientras que las células transformadas romperán este compuesto y serán blancas.

De este modo se pueden identificar y seleccionar las cepas transformadas de las que no aceptaron el vector con el gen de interés.

Levitsky, K. (2013). *Direct confocal acquisition of fluorescence from X-gal staining on thick tissue sections*. Scientific Reports volume 3, Article number: 2937.

Burn, S. (2012). *Detection of β -Galactosidase Activity: X-gal Staining*. Kidney Development pp 241-250.