

Χρώση GUS

[Jefferson et al. (1987); Rodrigues-Pousada et al. (1993)]

- Ο ιστός ή τα όργανα του *A. thaliana* που θα υποστούν τη χρώση GUS ξεπλένονται μία φορά με διάλυμα RS (rinse solution).
- Στη συνέχεια προστίθεται διάλυμα χρώσης GSS (GUS staining solution) μέχρι ο ιστός να καλυφθεί πλήρως.
- Ακολουθεί διεύδυση των ιστών με τη βοήθεια αντλίας κενού 1 φορά. Σε αυτό το στάδιο δίνεται ιδιαίτερη προσοχή, έτσι ώστε ο ιστός/τα όργανα να είναι πλήρως εμβαπτισμένα μέσα στο διάλυμα GSS και να μην υπάρχουν φυσαλίδες αέρος γύρω από τον ιστό.
- Επώαση στους 37°C για 1–24 h ανάλογα με τον ιστό και την ενζυμική δραστικότητα.
- Αφαιρείται το διάλυμα χρώσης GSS και αφυδατώνεται ο ιστός με διάλυμα αιθανόλης 70%, το οποίο ανανεώνεται συχνά. Οι ιστοί με αυτόν τον τρόπο αποχρωματίζονται, καθώς απομακρύνεται σταδιακά η χλωροφύλλη και η εμφάνιση του μπλε χρώματος γίνεται πιο έντονη. Μετά την αφυδάτωση με την αιθανόλη, ο ιστός τοποθετείται σε διάλυμα 30% γλυκερόλης όπου μπορεί να παραμείνει για αρκετές ημέρες.

Διαλύματα χρώσης GUS και παρατήρησης παρασκευασμάτων

- Διάλυμα ξεπλύματος RS (rinse solution) : 50mM Na[P]O₄ pH 7.2, 0.5mM K₃Fe(CN)₆, 0.5mM K₄Fe(CN)₆
- Διάλυμα χρώσης GSS (GUS staining solution) : 50mM Na[P]O₄ pH 7.2, 0.5mM K₃Fe(CN)₆, 0.5mM K₄Fe(CN)₆, 1.5mM X-GLUC (Duchefa Cat.No : X1405, MW=520,8)

Βιβλιογραφία

Jefferson RA, Kavanagh TA and Bevan MW. (1987). GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *The EMBO Journal* **6**: 3901–3907.

Rodrigues-Pousada RA, De Rycke R, Dedonder A, Van Caeneghem W, Engler G, Van Montagu M, Van Der Straeten D. (1993) The Arabidopsis 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene 1 is expressed during early development. *The Plant Cell* **5**: 897–911.