

2차원 공초점 이미지 분석에 의한 C6 세포주 괴사 현상의 실시간 관찰

황상연, 이은규*, 이문권¹, 송영미
한양대학교; ¹한양대학교 마이크로바이오칩센터
(eklee@hanyang.ac.kr*)

Apoptosis란 세포내의 유전자에 의해 제어되어 죽는 프로그램을 말하며, necrosis는 외부로부터의 스트레스에 의해 세포가 죽는 것을 말한다. 본 연구에서는 공초점 형광 현미경을 이용하여 신경 조세포인 C6 cell line의 staurosporine처리 후 세포 괴사 이미지를 측정하였다. Apoptosis를 위해서는 GFP를 발현시킬 수 있는 pCaspase3-sensor를 이용하였다 (nuclear translocation). Necrosis를 확인하기 위해서는 PI (propidium iodide)를 이용하였다. PI는 necrosis가 일어난 후 DNA와 결합하여 발광하는 형광 염색약이다. Apoptosis 관측 시 staurosporine 외 다른 인자들을 배제하기 위하여 세포 배양 조건은 DMEM (10% FBS, 100 IU/I PS) 배지와 5% 농도의 CO₂를 지속적으로 공급하며, 37°C의 온도를 유지시킬 수 있는 세포 배양용 chamber를 이용하였다. Staurosporine을 처리 후 apoptosis가 일어나는 시간, 세포의 모습 및 GFP의 이동 현상을 관찰하였다. 이와 비교하기 위하여 cell viability (proliferation assay)를 측정하였다. 그 결과 0.7 μ M staurosporine을 주입하였을 때 약 14시간 이후에 apoptosis가 관찰되었지만 모든 세포들이 apoptosis를 통하여 죽는 것이 아니고, necrosis를 통하여 죽는 것을 PI를 이용하여 관측하였다. Staurosporine의 농도를 0.1 μ M로 감소 시켰을 경우에는 대부분의 세포들이 apoptosis로 죽는 것을 확인하였다. 결과적으로 세포가 staurosporine의 농도에 따라 서로 다른 메커니즘에 의해 괴사하는 것을 확인하였다.