

Cell Based ELISA Tech Tip

1. 실험을 위해 추가적으로 필요한 시약은 어떤 것이 있나요?

- 37% formaldehyde (fixation)
- 30% H₂O₂ (Quenching buffer)
- Poly-L-Lysin (Non-adherent cell protocol에 사용됨)

2. 두 가지 종류의 protein을 동시에 보려면 두 가지 color detection system을 이용하나요?

- 맞습니다. HRP 와 AP가 발색에 이용됩니다. 또한 substrate도 1과 2로 두가지가 각각 이용됩니다.

3. Substrate 1과 2를 처리할 때 꼭 순서를 지켜야 하나요?

- Substrate 1을 넣고 incubation 한 후 형광을 발색한 후 substrate 2를 넣어야 합니다. 만약 동시에 substrate 1과 2를 처리하면 형광이 제대로 발색되지 않을 수 있습니다.

4. 사용하는 cell line이 부유세포인 경우는 어떡하나요?

- 제품 insert를 보면 별도로 non-adherent cell용 protocol이 제공됩니다. 추가적으로 Poly-L-Lysin이 요구됩니다.

5. non-adherent cells에는 왜 8% formaldehyde 사용 (adherent cells은 4% formaldehyde)이 추천되나요?

- 일반적으로 8%의 formaldehyde가 4% 보다 plate 바닥에 cell이 부착되도록 해줍니다.

6. 만약 540 nm excitation이 사용불가 하다면, 다른 excitation과 emission 파장 사용이 가능한가요?

- Excitation파장은 500-580 nm 범위 내에서 사용합니다. 그리고 520-570 nm의 파장도 사용 가능합니다. Emission 파장은 595-605 nm를 추천합니다.

7. Poly-D-Lysine은 Poly-L-Lysine의 대체품으로 사용 가능하니까?

- Poly-D-Lysine으로 test를 해보지 않았기 때문에 guarantee할 수는 없습니다. 그러나 그것은 사용 가능 할 것입니다.

8. 어떻게 세포는 투과가 가능한 상태로 되나요?

- 세포는 wash buffer와 blocking buffer에 포함된 1% Triton X-100에 의해 투과성을 가지게 됩니다. Assay 시간을 줄이기 위하여 세포는 washing과 blocking과정에서 투과성을 얻게 됩니다.

9. 두 가지의 substrate를 처리하여 incubation 한 뒤, 얼마 동안 signal이 안정한가요?

- 제조사에 의하면, substrate는 약 20시간 정도 안정합니다. 우리는 incubation 후 2시간까지 test를 해보았으며, 결과는 사용가능 하였습니다.