



Live Cell Assay가 가능한 최적의 Reporter System

Great EscAPe™ SEAP Chemiluminescence Kit 2.0

Promoter 활성을 민감하게 모니터링하는 가장 간단한 방법

- 탁월한 감도
- 향상된 signal stability
- Cell lysis 없이 살아있는 세포 그대로 실험가능

Great EscAPe™ SEAP Chemiluminescence Kit 2.0은 세포를 파쇄하지 않고 세포 외부로 분비되는 Secreted Alkaline phosphatase (SEAP)를 이용한 enzymatic reporter assay kit이다. 기존 제품보다 감도 (sensitivity)와 signal stability를 향상시키며 역점을 두어 고안되었으며, 사용상의 편의를 위하여 반응에 사용되는 buffer의 수를 3종류에서 1 종류로 단순화하였다. 본 kit에서 사용되는 SEAP 부분은 Clontech의 Ready-To-Glow™ Dual Secreted Reporter Assay에도 적용되고 있다⁽¹⁾.

Outstanding Results

개선된 Great EscAPe™ SEAP Chemiluminescence Kit 2.0은 기존의 Great EscAPe™ SEAP Chemiluminescence Kit에서 검출되는 높은 감도와 비교하여도 훨씬 월등한 결과를 나타내고 있다. 본 제품은 background signal을 극적으로 감소시켜 dynamic range (측정 유효 signal 영역)를 확장시키고 측정 signal의 감도를 증가시켰다. 또한, 본 Kit의 강한 signal은 기존 제품 보다 시간에 따라 더 안정적인 양상을 보이고 있다(그림 1).

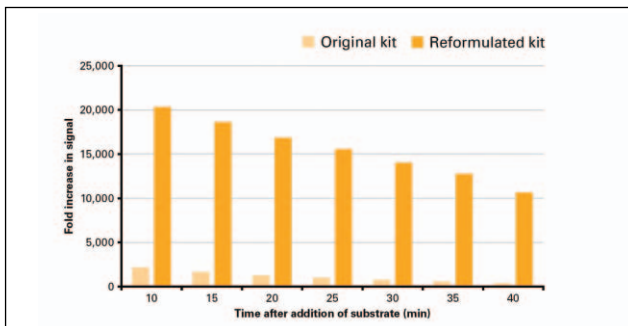


그림 1. The Great EscAPe™ SEAP Chemiluminescence Kit 2.0 is more sensitive and has greater signal stability than the original kit. HEK 293 cells were transiently transfected with a vector encoding SEAP under the control of the constitutive CMV promoter. The media supernatant was collected after 48 hr from transfected and mock-transfected cells. Samples were assayed with the original and new kits and protocols, and analyzed on a Turner BioSystems Modulus™ Microplate Multimode Reader.

SEAP 활성은 측정하고자 하는 promoter에 대하여 아주 특이적이다. 본 Kit를 이용하여 CRE promoter element를 promoter-specific inducer와 7시간 반응시키는 동안에서 SEAP signal이 20배 정도 강하게 증가됨이 관찰되었다. 이 SEAP assay는 효소 농도에서 10^4 배수의 영역까지 직선 상관관계를 나타내었다 (data not shown).

Optimized Protocol

Ver.2.0은 기존 Kit에서 사용하던 3 종류의 buffer를 하나로 통합하여 반응 단계를 줄였고, signal 감도를 증가시켜 측정 가능한 시간을 연장하여 더 많은 실험에 사용할 수 있도록 하였다.

Live Cell Assay Provides Flexibility

본 kit는 배양 세포에 손상을 주지 않고 배양액을 이용하여 측정을 하기 때문에 동일한 세포를 이용하여 시간에 따른 변화추이 관찰이 가능하며, 조건 변화에 따른 결과 비교가 가능하다. 또한, 이 세포를 그대로 downstream test에 사용할 수 있는 이점을 제공하고 있다.

Ver.2.0은 기존 제품의 특이성과 신뢰성 모두를 그대로 지니고 있으면서 특이성, signal stability 및 사용상의 편의성을 더하였다.

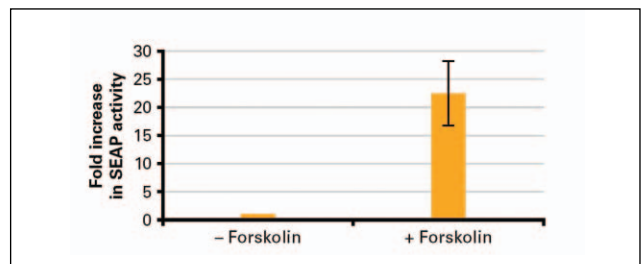


그림 2. SEAP activity is highly specific with a > 20-fold increase in activity. HEK 293 cells were transiently transfected with a promoter construct containing CRE driving the expression of SEAP, or mock-transfected. 12 hr posttransfection, the cell culture media was replaced by media containing either 10 μ M forskolin or plain cell culture media and incubated for 7 hr. Forskolin causes an increase in the level of cytosolic cAMP, which in turn activates CRE, driving the expression of SEAP, which is detectable in the media culture supernatant. The samples were assayed using the new kit and protocol and analyzed on a BD Monolight™ 3096 Luminometer.

Product	Size	TaKaRa Code
Great EscAPe™ SEAP	50 rxns	631736
Chemiluminescence Kit 2.0	300 rxns	631737
	1,000 rxns	631738

Components

- 5 x Dilution Buffer
- SEAP Substrate Solution
- Positive Control Placental AP
- Protocol-at-a-Glance (PT3954-2)

■ 관련제품

- Ready-To-Glow™ Dual Secreted Reporter Assay (TaKaRa Code 631734)
- Ready-To-Glow™ Dual Secreted Reporter Vector Kit (TaKaRa Code 631735)
- Fusion-Blue™ Competent Cells (TaKaRa Code 636700 & 636758)
- Supercharge EZ10 Competent Cells (TaKaRa Code 636756)

Reference

1. Ready-To-Glow™ Dual Secreted Reporter System (October 2006) *Clontechiques* XXI (3):1.