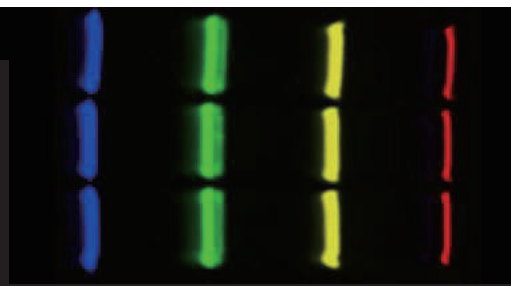


# 迎接螢光世代的來臨

## — 多通道螢光西方墨點法



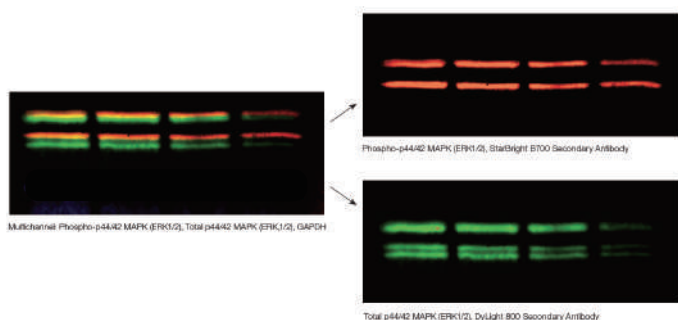
撰文者：黃琪雅

### 前言

西方墨點法 (Western Blot) 此技術已廣泛應用於蛋白質表現量之分析，然而隨著學術研究的蓬勃發展，科學家希望能利用最少的樣品得到最多的數據，因此，多通道螢光西方墨點法隨之誕生。利用螢光技術，可在單張轉漬膜上同時觀察多種不同目標蛋白，在單次實驗中即可獲得最多的分析數據。

### 螢光技術之應用性

不論轉漬膜上有單一或多個目標蛋白，均可利用螢光技術來呈現，尤其是令人頭痛的磷酸化、乙醯化或任何分子量接近的蛋白，更加適合利用螢光技術由繁化簡。圖一即為利用螢光技術觀察磷酸化前後 p44/42 MAPK (ERK1/2) 蛋白表現之實例。



圖一、利用螢光技術觀察Phospho/Total p44/42 MAPK (ERK1/2) 蛋白，所使用抗體為StarBright B700及DyLight 800螢光二抗。

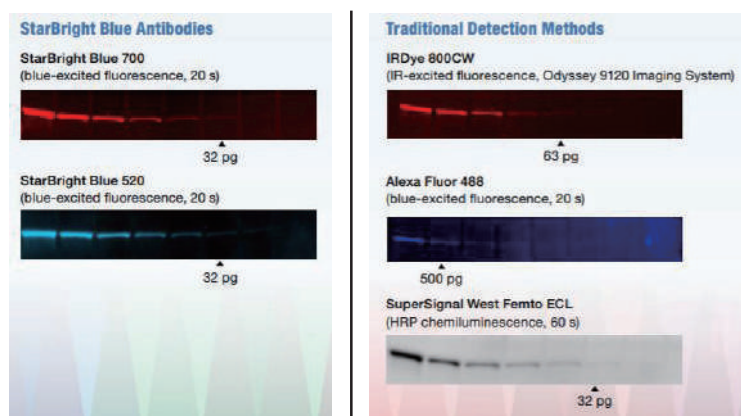
近年來，隨著學術倫理意識提升，轉漬膜經裁切或反覆脫抗 (stripping) 等動作均可能造成數據之爭議性。因此，藉由螢光技術不僅可免去上述繁縟的動作，亦可節省試劑與樣品的使用量，實現單次實驗中觀察多種目標蛋白之願景！

### 螢光技術新革命

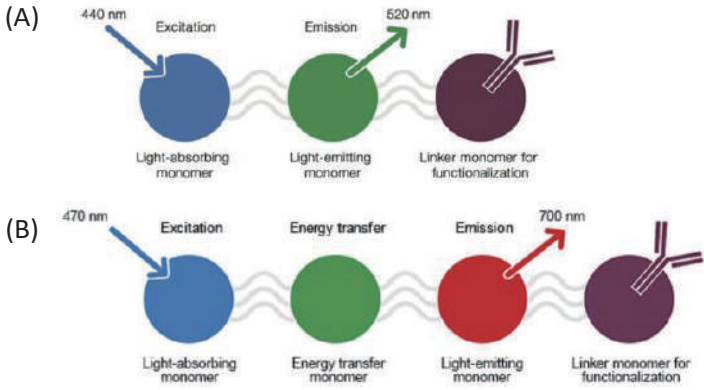
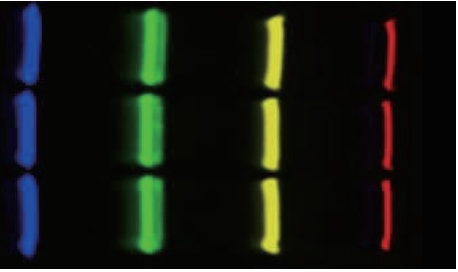
螢光Western Blot雖為近年之趨勢，然而實際上此技術並非近幾年才由學者提出，以往在螢光技術的發展過程所遇到的難題無非是抗體選擇少、儀器效能不佳等種種限制。因此，身為Western Blot的領導者，BIO-RAD提出革命性的新產品—螢光抗體及多重冷螢光影像系統，準備迎接螢光時代的來臨。

### StarBright™ 螢光二抗

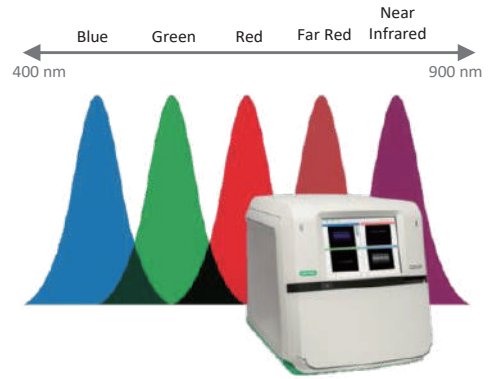
StarBright™ 系列螢光二抗搭載了極明亮且穩定的半導體聚合物顆粒，大幅提升了螢光訊號，其靈敏度偵測下限相對於傳統螢光可更低約2-4倍，相當於強效型ECL之表現 (圖二)，並可使影像背景值更低。StarBright™ 系列抗體分別有StarBright Blue 520 ( $Ex_{max}/Em_{max}=440\text{ nm}/520\text{ nm}$ ) 及StarBright Blue 700 ( $Ex_{max}/Em_{max}=470\text{ nm}/700\text{ nm}$ ) 兩款 (圖三)，可於多通道螢光Western Blot實驗中相容使用。



圖二、StarBright™ 抗體與傳統螢光抗體靈敏度比較。



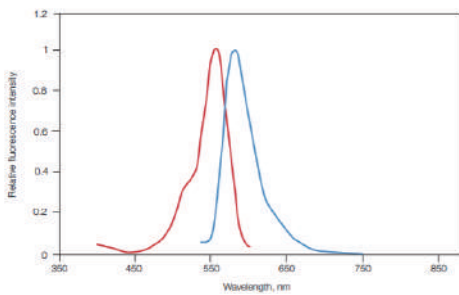
圖三、StarBright™ 螢光激發與發射光譜：  
(A) StarBright Blue 520; (B) StarBright Blue 700。



圖五、ChemiDoc MP 螢光光源。

### hFAB™ Rhodamine 螢光一抗

hFAB™ 系列抗體為一抗上帶有 Rhodamine 螢光，可偵測常見的管家蛋白 (housekeeping protein, HKP) 如 Actin、Tubulin 及 GAPDH。其螢光光譜為  $Ex_{max}/Em_{max}=530\text{ nm}/580\text{ nm}$  (圖四)，可與上述 StarBright™ 或其他螢光抗體相容使用，由於此一抗已標記 Rhodamine 螢光，因此僅需單一步驟即可偵測 HKP 訊號。



圖四、hFAB™ Rhodamine 抗體激發(—)與發射(—)光譜。

### ChemiDoc MP 多重冷螢光影像系統

BIO-RAD ChemiDoc MP 多重冷螢光影像系統為新一代影像系統之領導者，可拍攝核酸膠片、蛋白質膠片、冷光膜及螢光 (搭載藍/綠/紅/遠紅/近紅之五色 LED 光源，如圖五)。ChemiDoc MP 具備人性化的操作介面及優異的靈敏度，絕對是多重螢光偵測的最佳幫手！



## 結論

隨著螢光技術的蓬勃發展，Western Blot 儼然已進入下一個世代，而俗話說「工欲善其事，必先利其器」，利用 BIO-RAD 全新螢光抗體與影像系統，必能幫助您獲得最好的數據！

## 參考資料

- 1、BIO-RAD Bulletin 10000078050
- 2、BIO-RAD Bulletin 6911
- 3、BIO-RAD Bulletin 6873