

Odyssey® Infrared Imaging System 簡介

傳統的蛋白質定量與 western 偵測方法，多數採用化學冷光偵測系統。冷光偵測是一種 Time-dependent enzymatic assay，會因為時間之不確定性而導致定量結果的再現性不高。一般偵測冷光之方式有傳統之 x-ray film 曝光方法或用高階 CCD 影像擷取系統。然這些方法之限制性在於 x-ray film 本身之線性度極差；而影像系統則往往會因抓不準最適曝光時間而需一再測試。此外冷光偵測最大之缺點是只能做到單色偵測，若您想於同一片 blot 上觀察兩種不同之 target proteins，最常用的方法就是將 blot stripping 後再 re-probe。這種做法可能會有 blot 背景值過高 訊號過弱等情況發生，且無法掌握 re-probe 之反應條件與前次相同。

根據上述之缺點與限制，LI-COR® Bioscience 公司針對蛋白質之定量及定性研究，研發 Odyssey® Infrared Imaging System 偵測系統。此一系統最獨特之優點是採用“近紅外光雙色偵測”(Infrared two colors detection) 方式，提供您在單張 blot 中，可同時分析兩種不同之 target proteins，此一技術在蛋白質分析研究方面為一大突破。Odyssey® Infrared Imaging system 提供 direct detection 方法，直接在二級抗體上標定 Infrared dye (IRDye™)，用近紅外光雷射光源激發，即可得到穩定且清晰的訊號，同時可作數據之分析，操作快速、方便，取代傳統冷光需加 substrate、底片曝光及沖洗等步驟。獨特之“近紅外光雙色偵測”，使您一次實驗中可就獲得兩種蛋白質表現定量結果。對於從事訊息傳導實驗之研究者而言，一次實驗即可同時分析 total & phosphorylated protein。

Odyssey 的特性：

1. **獨立之偵測系統**：LI-COR Odyssey Infrared Imaging System 具備兩支獨立之**固態雷射** (680nm ; 780nm) 及偵測器，雷射壽命長達 60,000 小時，維護容易。
2. **絕佳的準確度與再現性**：因採用**近紅外光雷射科技**：比放射性及冷光標定法，有更高的敏感性(可偵測 1.2pg 的蛋白質)及準確性 (linear range 達 4000 倍)。
3. **網路連結方式操控儀器**：可藉由網路連線，於任何時間、地點及作業平台進行主機操控或結果分析。
4. **節省實驗所需成本與時間**：反應過程不需再加受質來呈色，也不需壓片、沖底片等複雜、費時、昂貴的步驟。
5. **雙色螢光**：雙色紅外光雷射及偵測器，可用**雙色螢光**同時標定，可在一次實驗內準確完成蛋白質表現差異之分析，節省一半時間、成本。
6. **多功能的分析軟體**：影像分析部分包含自動條帶偵測、分子量計算、絕對定量與相對定量分析、矩陣點定量分析及基因差異性表現分析

Odyssey® Infrared Imaging System 之應用

1. DNA/RNA Analysis

- 應用範圍包括分子量測定、DNA 片段分析、PCR 產物定量、菌落雜交分析、Southern blot、Dot blot、RFLP、SSCP、AFLP、cDNA AFLP、Fluorescent Gel Shift Assay。
- 應用範圍包括 Northern Blot、RNA 定量分析、分子量偵測、基因表現分析及 RNase Protection Assay。

2. Protein Analysis

- 應用範圍包括偵測蛋白質的表現量，蛋白質的分子量，蛋白質與 DNA 的交互作用.... 等。
- 利用 Two-color Western Blots 技術進行雙色蛋白質磷酸化分析，可於同一張 Membrane 上同時觀察磷酸化與非磷酸化之蛋白質表現
- 可進行 In-cell Western 及 In-gel Western，適用於大量蛋白質篩檢性實驗。

3. Diagnosis

- **癌症診斷**：檢測癌細胞內特定基因 (如 oncogene 或 proto-oncogene) 的表現量有無

異常。

- 疾病鑑定：檢測引起疾病的病原體中的特定蛋白表現量，包括細菌、病毒....等。
- 藥物篩檢：觀察特定蛋白質量的變化以判定藥物對疾病的治療效果，或是大量且快速的藥物篩選。

4. 組織學 Histology

- 活體動物：可檢測特定蛋白質在活體動物內的分佈情形。例如使用 Odyssey 檢測與阿茲海默症 (Alzheimer's disease) 有關的 amyloid 在活體老鼠中分佈的情形。
- 免疫組織化學 (Immunohistochemistry)：可觀察分析蛋白質在組織切片的分佈情形。例如使用 Odyssey 觀察與杭丁頓氏舞蹈症 (Huntington's disease) 有關的多巴胺 (Dopamine) receptor 在老鼠腦部切片分佈情形。

5. Protein Microarray

- Protein micro-array：將蛋白質點在玻片上，進行西方墨點法，即可在 Odyssey 上快速地觀察分析大量的某特定蛋白質是否有異常表現。
- Reverse-Phase protein micro-arrays：直接將腫瘤切片點在玻片上，進行西方墨點法，即可在 Odyssey 上快速地觀察分析大量的腫瘤切片的某特定蛋白質是否有異常表現。(*Clinical Proteomics J. 1*, p81, 2004)

6. 酵素催化與調控

- 觀察細胞內正常酵素或突變酵素的蛋白量以及分佈情形，以分析研究酵素的代謝與細胞內調控的機制。如 c-ABI (*Cell. 112*, p845, 2003), PDK1 (*EMBO. 23*, p2071, 2004)。

7. 訊息傳遞 Signal transduction

- 以 Two-color Western 研究訊息傳遞調控蛋白磷酸化的情形，以及觀察誘發或抑制訊息傳遞的變化。如 Ras (*Nature. 427*, p256, 2004), JAK2(*Mol. Cell. Biol. 24*, p4955, 2004)

8. 微生物學與毒物學

- 研究細菌蛋白質的調控與變化。如黏菌(*JBC. 278*, p51395, 2003), 大腸桿菌(*Applied and Environmental Microbiology. 68*, p4117, 2002)
- 觀察氧化還原作用對特定蛋白的調控及對細胞的毒性反應。如 Thioredoxin-1(*Toxicol. Sci. 82*, p308, 2004), peroxisome (*Toxicol. Sci. 80*, p183, 2004)

9. 細胞凋亡 Apoptosis

- 觀察引發細胞凋亡的物質與細胞凋亡有關之蛋白質的變化與調控，如 Deoxycholate (*Carcinogenesis. 25*, p681, 2004), Rad21 (*Mol. Cell. Biol. 22*, p8267, 2002)

10. Transcriptional regulation

- 觀察細胞內轉錄分子的調控。如 sonRNA(*Mol. Cell. Biol. 24*, p6241, 2004), C/EBPa (*JBC. 279*, p7353, 2004)

11. 細胞生物學

- 研究蛋白質的變化與調控，如 transferrin(*Blood. 104*, 4287, 2004), phospholipase C (*J. Immunol. 172*, 6810, 2004)。
- 研究細胞內蛋白質裂解 (*EMBO. 23*, p4307, 2004)，細胞週期的調控 (*EMBO. 22*, p5746, 2003)，與細胞分裂 (*PNAS. 100*, p14875, 2003)。

12. 病毒學

- 研究病毒的蛋白質，如禽流感病毒 Influenza virus (*PNAS. 100*, p14610, 2003)。

13. 其他應用

- 可觀察用 Coomassie Blue 染色的膠片及 2-D Gel
- Two-Color EMSA