

C-DiGit Blot Scanner



เครื่องถ่ายภาพ และวัด

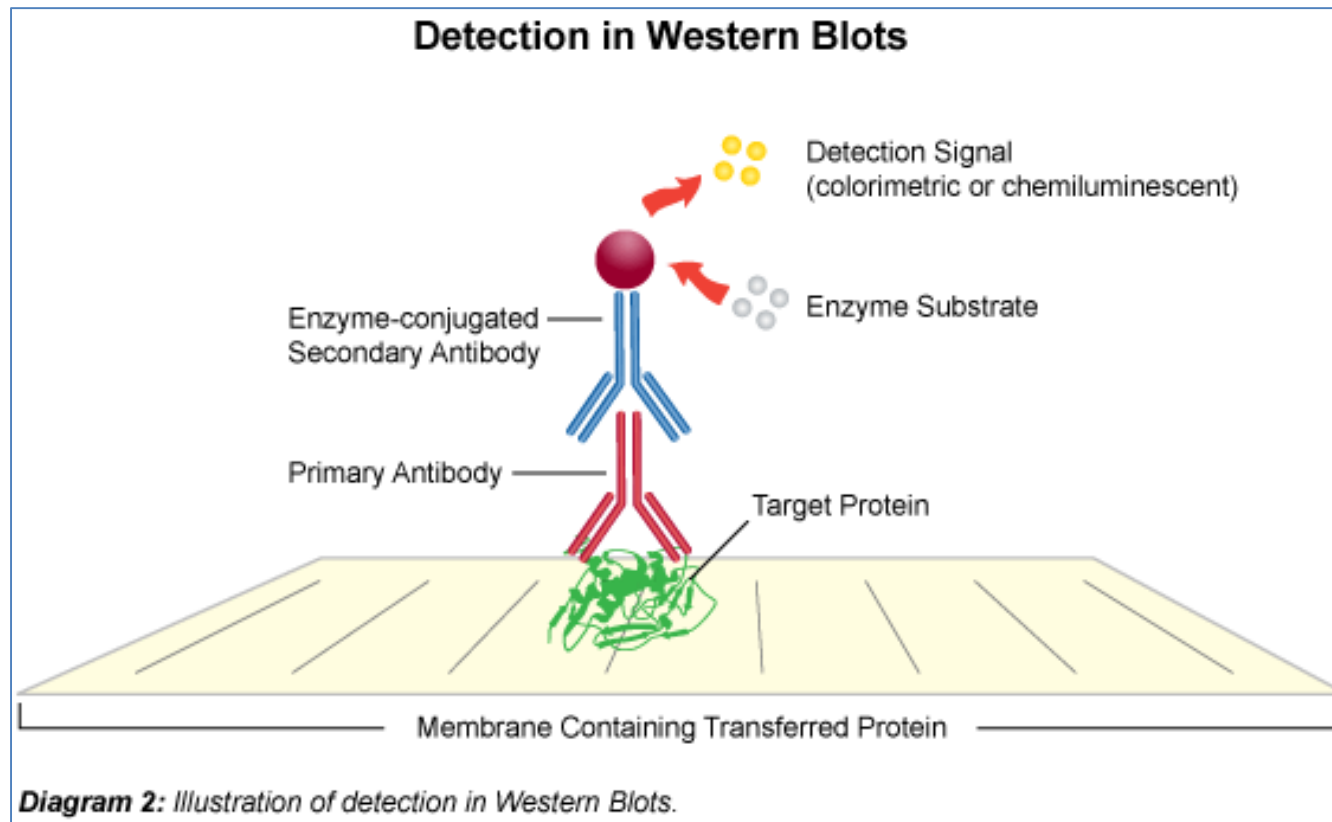
ระดับโปรตีนจาก

western blot

ผศ.ดร.ทพญ.อุลยพร ตราชูธรรม

Western blot

- Widely accepted analytical technique to detect specific proteins in the given sample of cell and tissue homogenate or extract



Procedures of Western blot



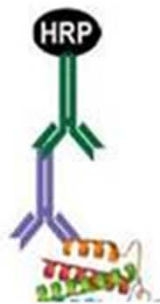
Sample preparation



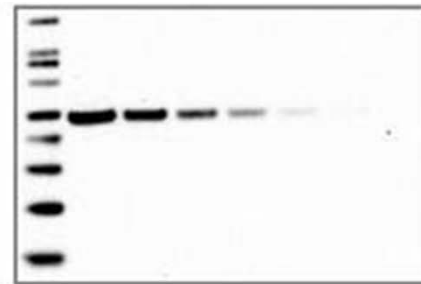
Gel electrophoresis



Protein transfer



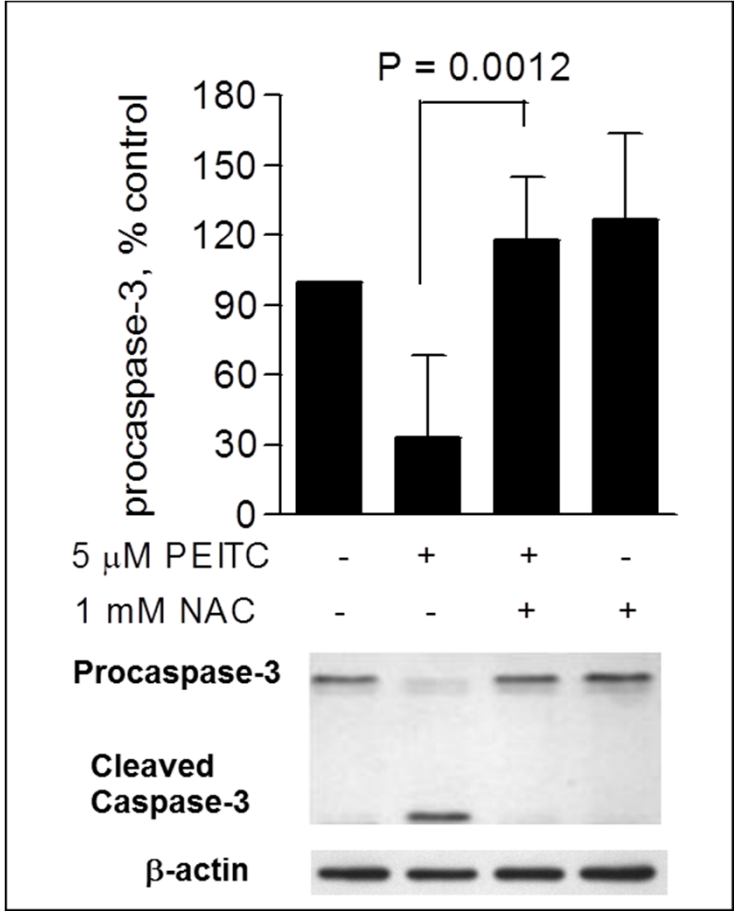
Immunodetection



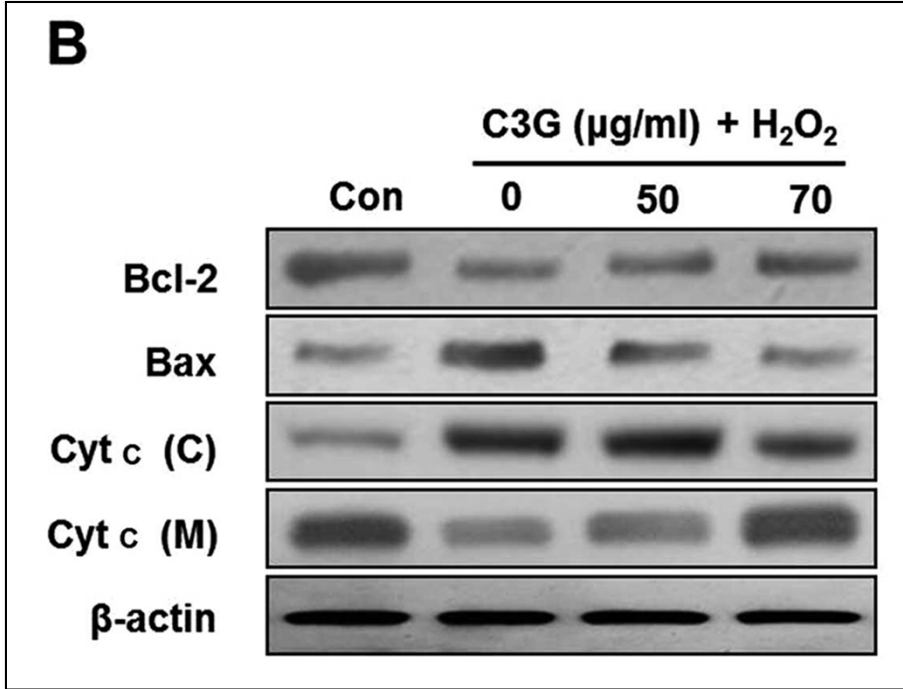
Imaging

ตัวอย่างการใช้ Western blot ในงานวิจัยทางอาหารและโภชนาการ

- วัดการเปลี่ยนแปลงระดับโปรตีนในเซลล์แบบจำเพาะ เมื่อได้รับอาหาร/ยา/สารพิษ



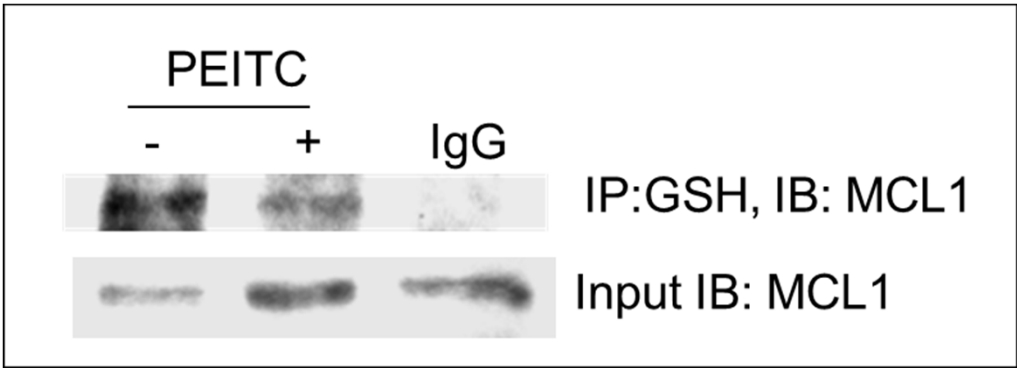
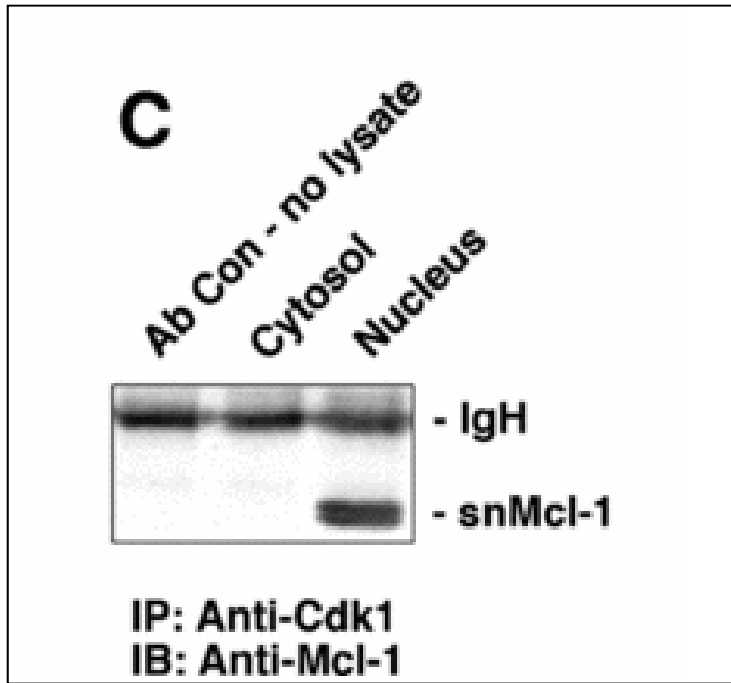
Trachootham D, et al. *Blood* 2008



Lee JS, et al. Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry fruit protects pancreatic β-cells against oxidative stress-induced apoptosis. *International J Mol Med* 2015

ตัวอย่างการใช้ **Western blot** ในงานวิจัยทางอาหารและโภชนาการ

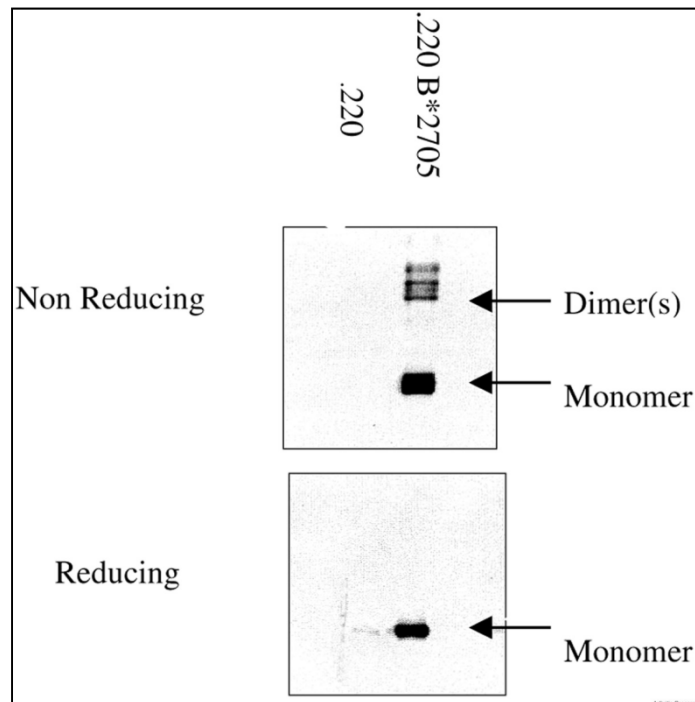
- ใช้ร่วมกับ **immunoprecipitation** เพื่อดู **binding** ระหว่าง โปรตีน 2 ตัว



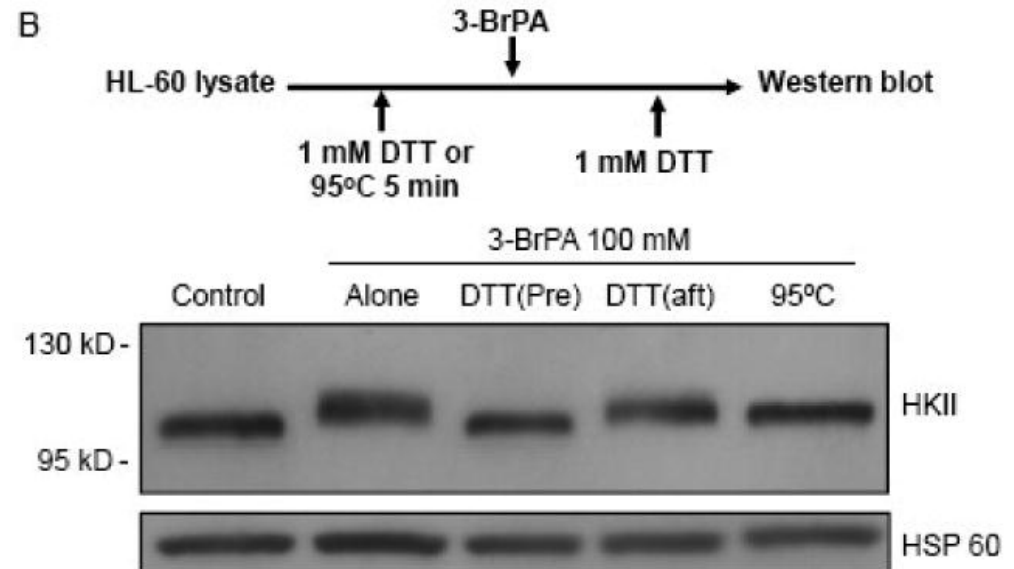
Trachootham D, et al. *Blood* 2008

ตัวอย่างการใช้ **Western blot** ในงานวิจัยทางอาหารและโภชนาการ

- วัดการเกิด **modification** ของ โปรตีน



e.g. Glutathione peroxidase

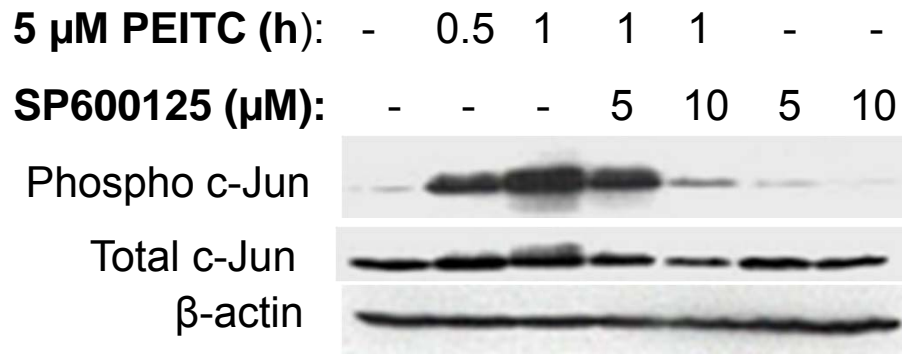


Chen Z1, Zhang H, Lu W, Huang P. Role of mitochondria-associated hexokinase II in cancer cell death induced by 3-bromopyruvate.

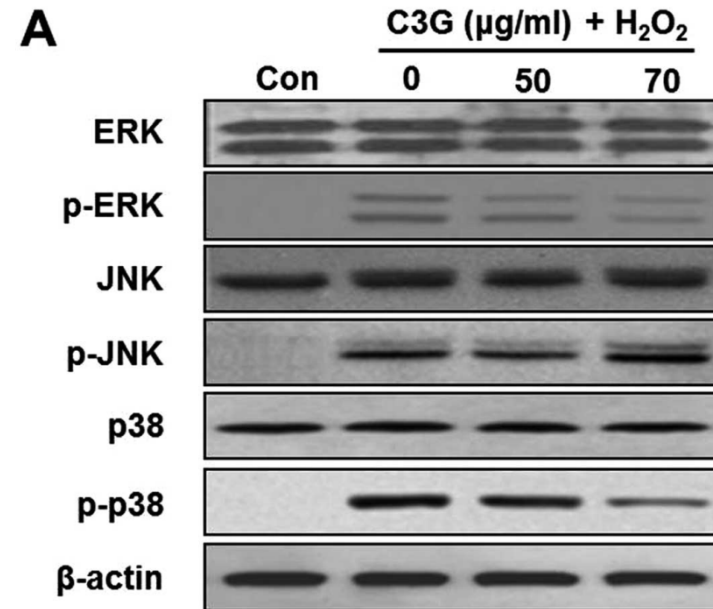
Biochim Biophys Acta. 2009 May;1787(5):553-60.

ตัวอย่างการใช้ **Western blot** ในงานวิจัยทางอาหารและโภชนาการ

- ศึกษาการเกิด **activation** ของ **cell signaling**



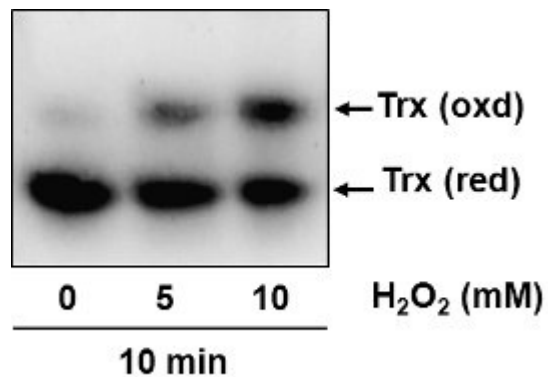
Trachootham D, et al. *Cancer Cell* 2006



Lee JS, et al. Cyanidin-3-glucoside isolated from mulberry fruit protects pancreatic β -cells against oxidative stress-induced apoptosis. *International J Mol Med* 2015

ตัวอย่างการใช้ **Western blot** ในงานวิจัยทางอาหารและโภชนาการ

- ศึกษา **Redox status** ของเซลล์ หรือโปรตีน (**Redox western**)



http://www.ifado.de/forschung_praxis/projektgruppen/junior/celltox/research_cadenas/index.html

Trapping reduced form with maleimide derivative



Bigger and Heavier reduced form



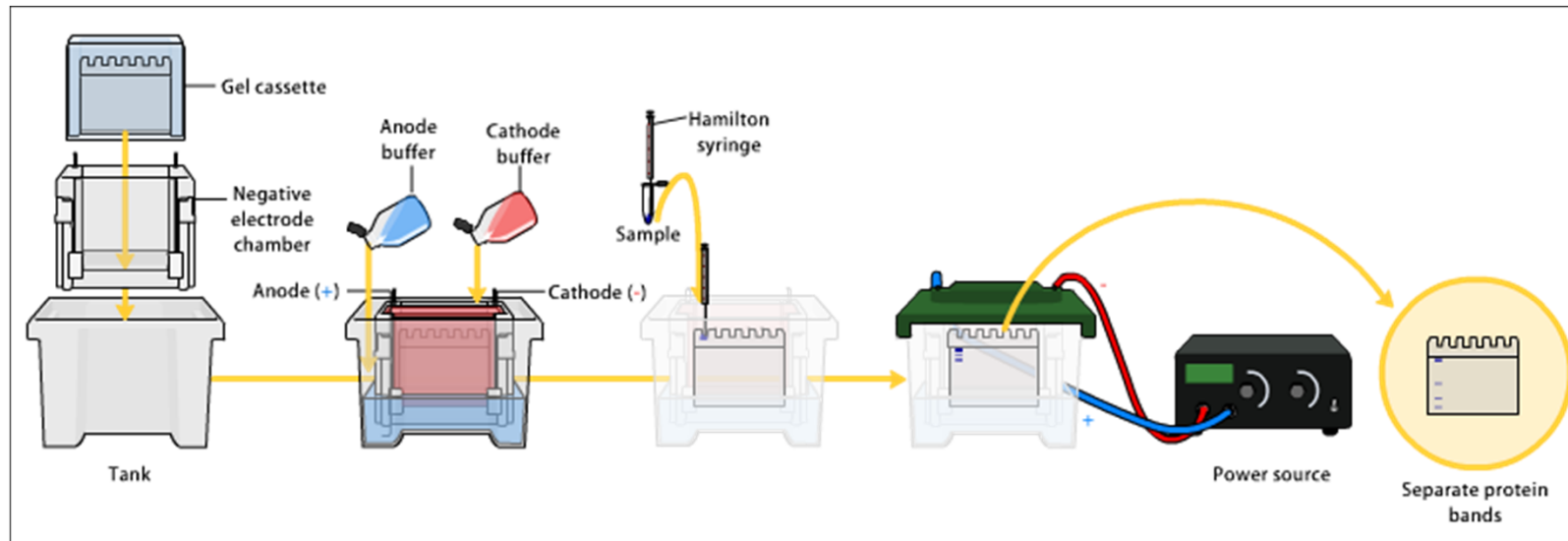
Perform non-reducing western blot analysis



Separate oxidized and reduced form

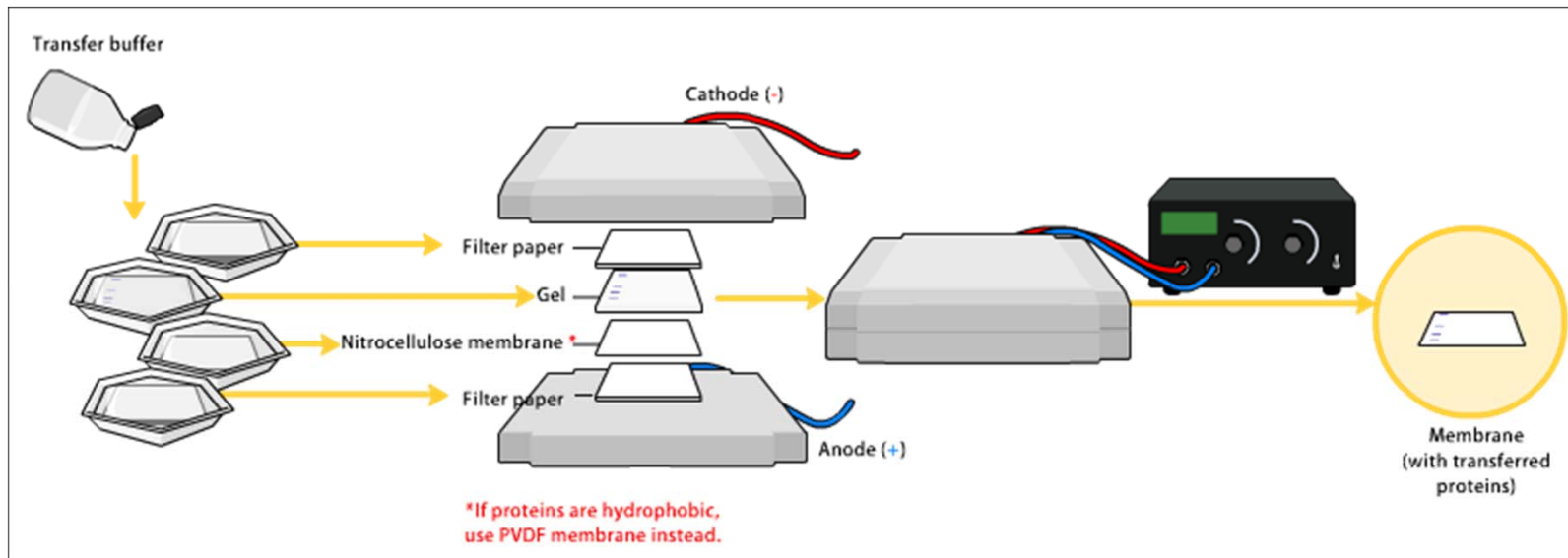
ขั้นตอนการทำ western blot

1. Protein separation by molecular weight: SDS-PAGE



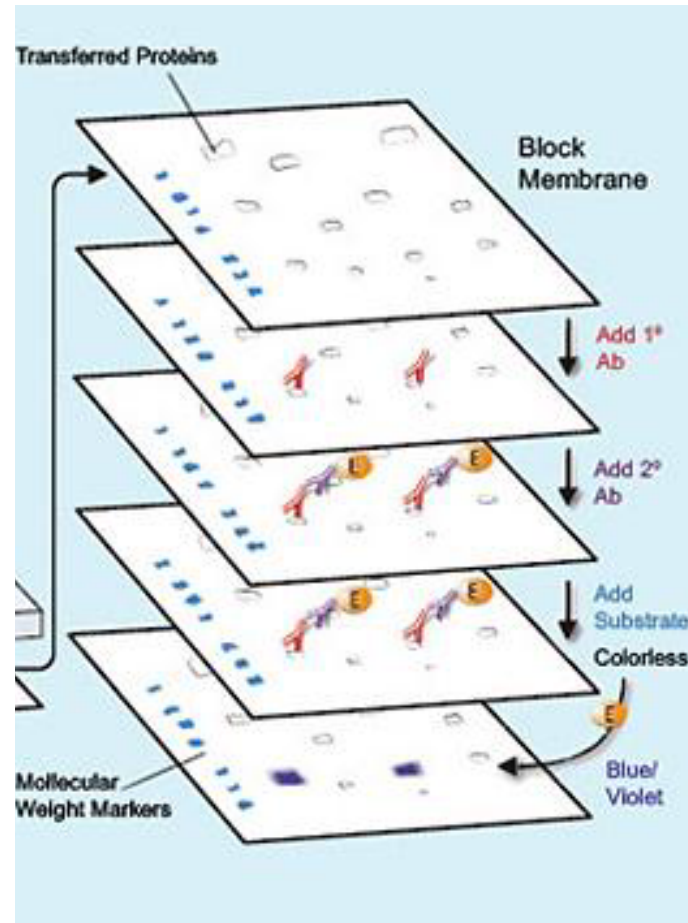
ขั้นตอนการทำ western blot

2. Protein Transfer from gel to membrane (blot)



ขั้นตอนการทำ western blot

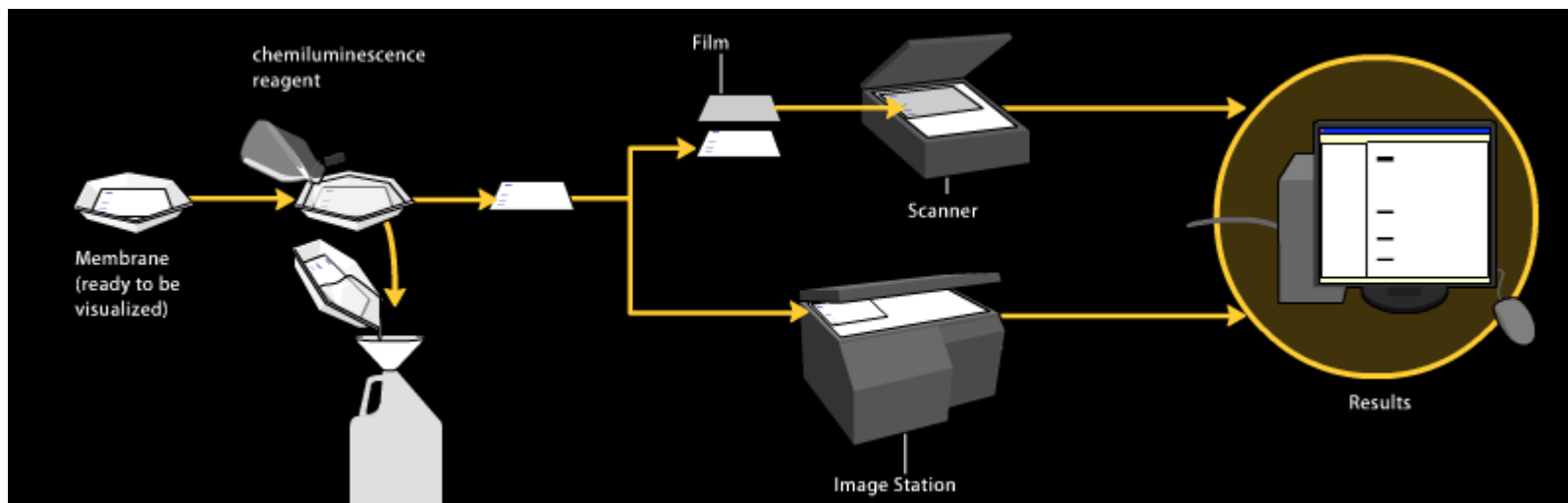
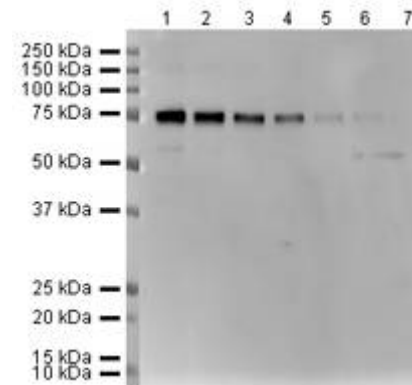
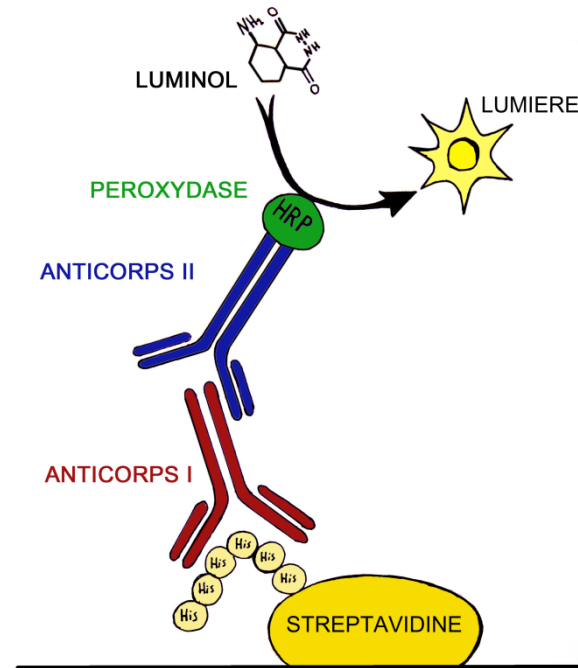
3. Specific binding between Antibody and protein of interest



ขั้นตอนการทำ western blot

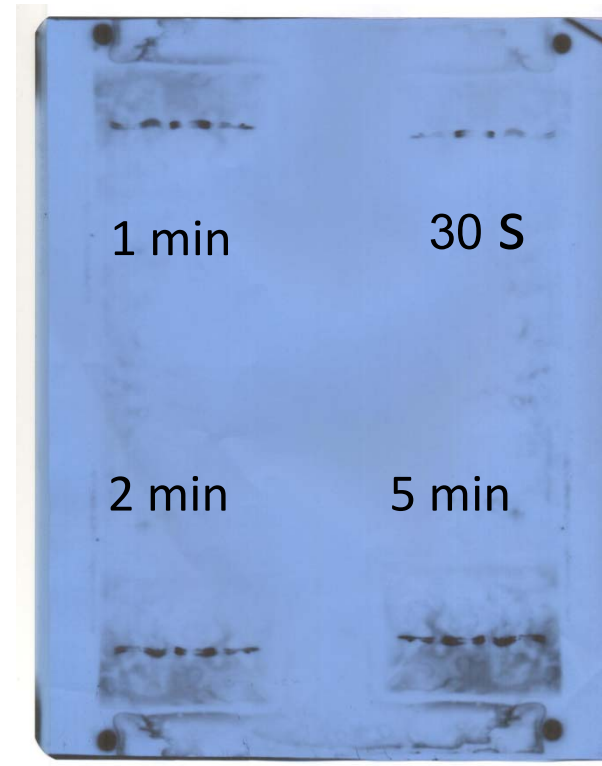
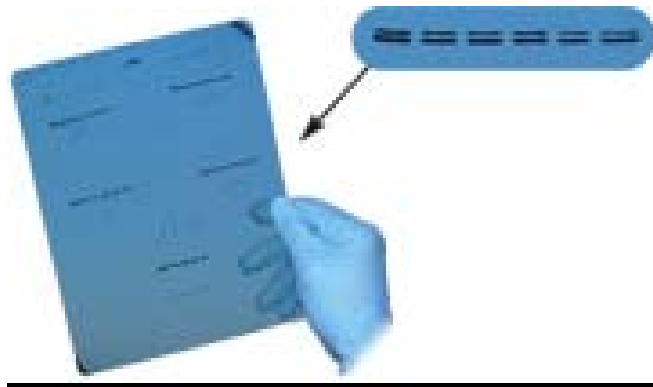
4. Signal detection

ECL



ทรัพยากรที่มักสิ้นเปลืองที่สุดในการทำ **western blot**

Film และน้ำยาล้างฟิล์ม



- เสียเวลามากในการหา **condition** ที่เหมาะสมในการ **expose film**
- ภาพที่ปรากฏบน **film** ปรับความคมชัดไม่ได้แล้ว

C-DiGit Blot Scanner



- No multiple exposures
- No darkroom required
- Save money for film and processing expense
- Include both picture scanning and data analysis

The C-DiGit™ Blot Scanner retains the advantages of film, while eliminating many of the drawbacks.



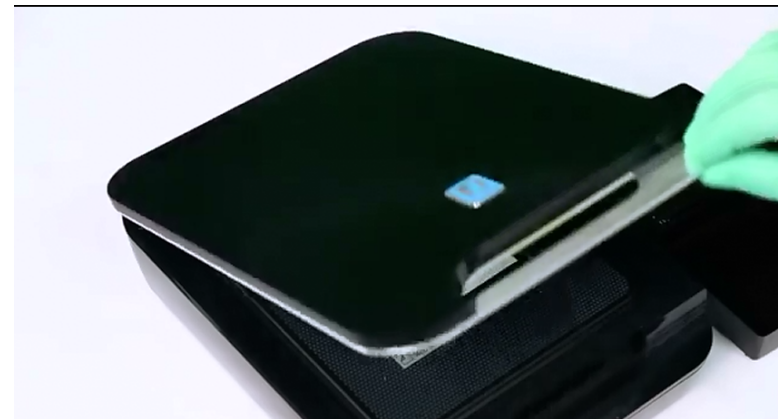
C-DiGit™ Blot Scanner



Film Western Blot

วิธีใช้งาน C-Digit blot scanner

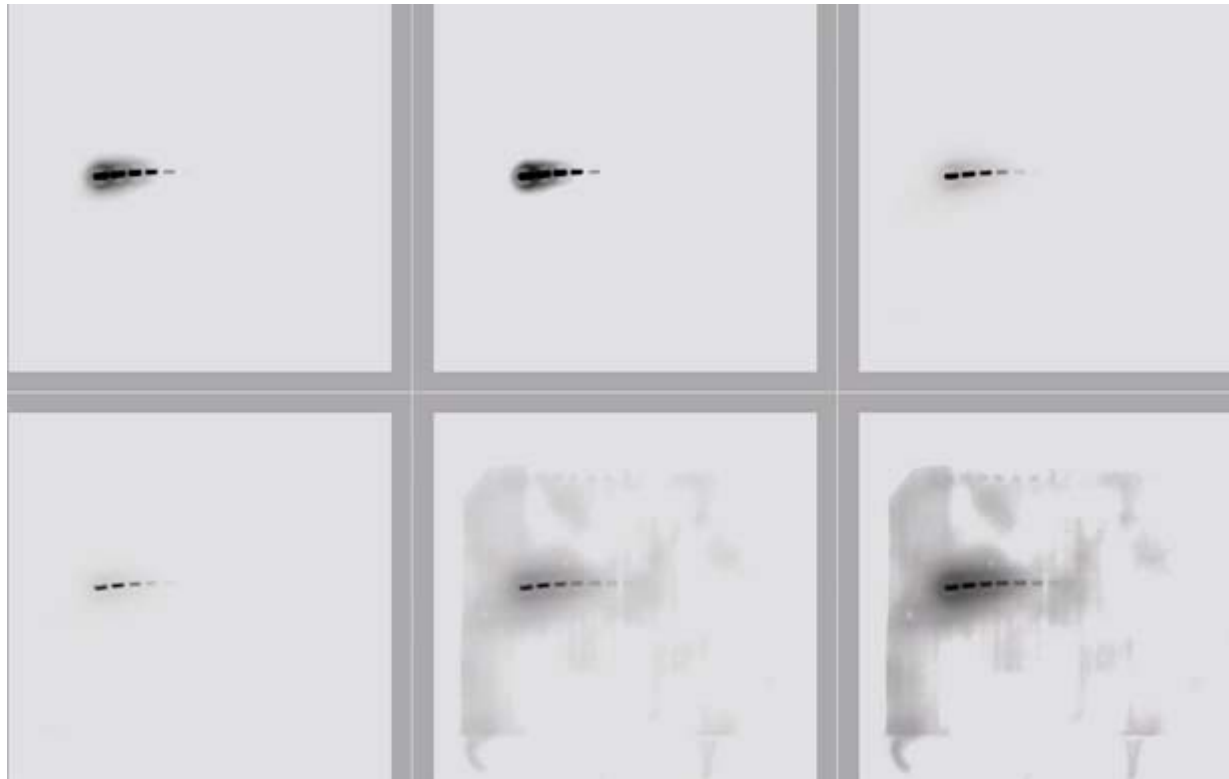
1. Activation of signal with ECL and place the blot on the scanner



2. Acquire image (ถ่ายภาพ)

Standard	5 นาที
High	10 นาที

ได้ภาพที่ดีที่สุด มา 6 ภาพ อัตโนมัติ



เลือกภาพที่ดีที่สุดมาปรับความคมชัดของ **signal** และ **background**

3. Quantification and data analysis

Image Studio Software 4.0



VDO Demonstration

- VDO How to place a blot on the C-Digit Blot scanner

<https://www.youtube.com/watch?v=MIUCM-TfQRQ>

<https://youtu.be/MIUCM-TfQRQ>

- VDO How to acquire image by the C-Digit Blot scanner

<https://www.youtube.com/watch?v=vkhamYX2q-l>

<https://youtu.be/vkhamYX2q-l>

- VDO How to quantify the band using Image studio 4.0

<https://www.youtube.com/watch?v=Yg15aaNZBj0>

<https://youtu.be/Yg15aaNZBj0>

ติดต่อเพื่อขอใช้งาน

ได้รับบริจาคเงินเพื่อจัดซื้อ จาก บริษัท เวิลด์ อินกรีเดียนส์ จำกัด

- ที่ตั้ง: ห้องปฏิบัติการเซลล์วิทยา ชั้น 4
- ติดต่อ: ผศ.ดุยพร โทร. 326
 ผศ.ศิริพร โทร. 419
 คุณเกมิกา (เก้) โทร. 421

