

GE (又称:思拓凡Cytiva) 

Amersham Typhoon 激光共聚焦成像仪

荧光Western Blotting智慧之选



定量Western Blotting

随着科学研究的深入，高水平期刊和基金项目对实验数据和结果的要求日趋严谨，定量可重复、具有统计学意义的数据至关重要。Western blotting技术是蛋白质研究最常用的技术，定量可重复的Western blotting实验数据，能够有效提高实验效率，促进研究进展，提高发表文章水平。

定量Western Blotting有以下要求：

- 1) 能够检测到微弱条带；
- 2) 能够同时定量强弱信号；
- 3) 能够消除泳道间上样量差异。

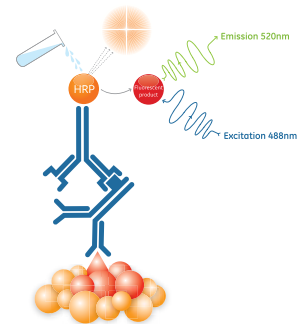
这就要求整个检测体系具有高灵敏度，宽线性动态范围，以及泳道内归一化的实验设计。荧光检测Western blotting的方法具有高灵敏度，宽线性范围和多通道检测的特点，受到越来越多的科研工作者的喜爱。

荧光Western Blotting检测方式

1. 化学荧光

化学荧光采用ECL Plus底物代替化学发光检测底物ECL检测Western blotting信号，具有灵敏度高、线性范围宽的特点。

ECL Plus试剂与HRP标记的二抗反应，反应产物在488nm激光激发下能够产生发射光，发射光通过Cy2滤光片由检测器接受，并转化为电信号。化学荧光可由激光共聚焦成像仪Amersham Typhoon检测，超大检测面积，可同时检测20张10×8cm印迹膜，其高通量的特点非常适合需要大量进行Western blotting检测的实验室。



化学荧光检测原理示意图

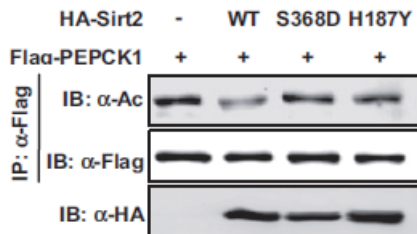
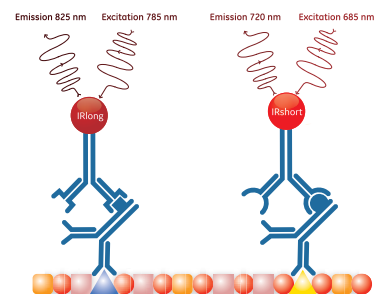


图1. Amersham Typhoon检测ECL Plus信号。(Acetylation Regulates Gluconeogenesis by Promoting PEPCK1 Degradation via Recruiting the UBR5 Ubiquitin Ligase, Molecular Cell 43, 33-44, July 8, 2011)

2. 近红外双通道荧光

用近红外荧光标记的二抗取代HRP标记的二抗进行Western blotting检测，在抗体孵育结束后，即可直接利用激光共聚焦成像仪Amersham Typhoon进行成像，不需要添加ECL底物，不需要在暗室进行X光片曝光，减少了实验步骤，节省时间，也节约了实验成本。

印迹膜在近红外波段具有较低的自发荧光，使得在成像时容易获得极低的背景，保证检测的高灵敏度。同时，近红外荧光具有宽的线性范围，使得定量更准确。



近红外双通道荧光检测原理示意图

通过双近红外荧光标记的二抗，不需要stripping和reprobing即可在同一张膜上同时检测目的蛋白和内参蛋白，实现同一泳道内参蛋白归一化，使定量更准确。同时，双通道检测更便于研究蛋白磷酸化水平。

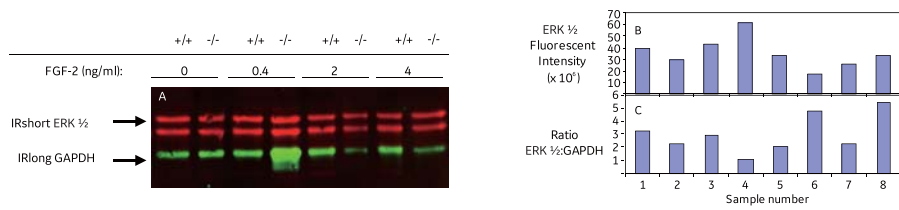


图2.*Amersham Typhoon 检测CHO细胞在FGF-2的刺激下ERK 1/2蛋白的表达变化。使用IRshort(红色)和IRlong(绿色)分别检测目的蛋白ERK 1/2和内参蛋白GAPDH。柱状图显示ERK 1/2蛋白的灰度值积分，和使用内参蛋白GAPDH归一化后的结果。

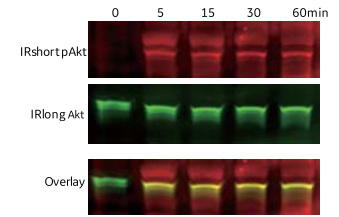


图3.* Amersham Typhoon 检测小鼠胚胎干细胞在5%FBS刺激下，Akt蛋白磷酸化水平随刺激时间延长的变化情况。使用IRshort(红色)和IRlong(绿色)分别检测磷酸化Akt和Akt总蛋白。

3. 红绿蓝三通道荧光

使用双色荧光标记二抗和一个荧光直接标记的一抗，可以在一张膜上同时检测三个蛋白，如内参蛋白、目的蛋白和磷酸化蛋白。在磷酸化水平的检测中，引入内参蛋白归一化校正不同泳道间的上样量差异，使得实验设计更严谨，所得结果更准确。

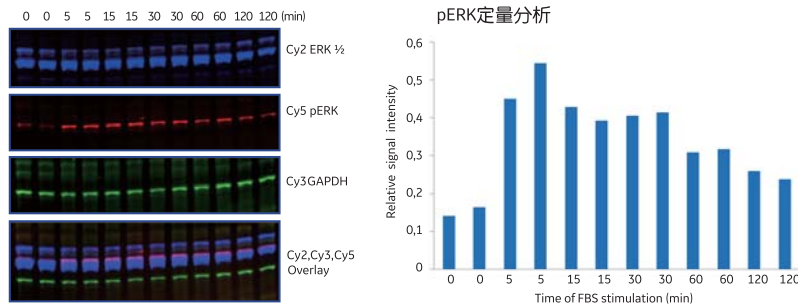
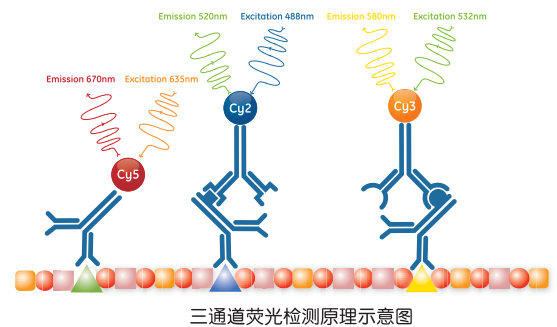


图4.*Amersham Typhoon检测小鼠胚胎干细胞在5% FBS刺激下ERK蛋白磷酸化水平。该实验使用ECL Plex 抗兔 Cy2(蓝色)和抗鼠 Cy5(红色)二抗分别检测ERK 1/2和磷酸化ERK，同时用Cy3标记的一抗直接检测内参蛋白GAPDH。由 Amersham Typhoon 成像。泳道内将ERK 1/2与内参蛋白GAPDH归一化，再由pERK/ ERK 1/2(normalized)计算ERK蛋白磷酸化水平。最小的crosstalk和低背景可提供可靠的、多通道信号的精确定量。



样品	小鼠胚胎干细胞
膜	Hybond™ LFP
目的蛋白	ERK 1/2、pERK、GAPDH
一抗	兔抗ERK 1/2、鼠抗 pERK、Cy3标记羊抗GAPDH
二抗	ECL Plex Cy2 GAR 和 Cy5 GAM
成像	激发 发射滤光片
Cy2	488nm Cy2 525BP20
Cy3	532nm Cy3 570BP20
Cy5	635nm Cy5 670BP30

总蛋白归一化，定量更准确

利用上样的总蛋白含量进行泳道间归一化，避免了内参蛋白选择烦恼。总蛋白归一化可基于荧光染料的蛋白质预标记技术，即在上样前，通过Cy5染料将蛋白标记上红色荧光。电泳结束后直接获得SDS-PAGE电泳图像，无需染色；也可在转印结束后根据膜上Cy5信号强度，判断转印情况；总蛋白信号代替内参蛋白用于归一化处理，结果更准确。

总蛋白归一化与内参蛋白归一化相比具有：

- 更宽的检测范围
- 更强的蛋白信号
- 含量不受处理条件影响的特点

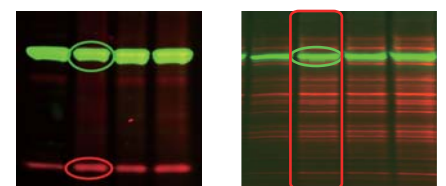


图5. a)内参蛋白归一化结果 b)总蛋白归一化结果

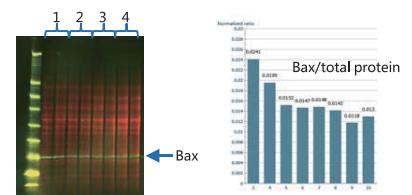


图6.*双通道同时检测靶蛋白Bax(绿色)和总蛋白(红色)，并进行总蛋白归一化计算。

Amersham Typhoon激光共聚焦成像仪

Amersham Typhoon激光共聚焦成像仪，可同时安装5个激光器与9个滤光片，激光器分别为：488, 532, 635, 685和785nm，共有9种标准滤光片可供选择，通过更换激光器与滤光片，可满足从可见荧光到近红外信号检测需求，是荧光Western blotting的智慧之选。



图7. Amersham Typhoon 是一款高性能、多应用激光成像仪，可用于灵敏的定量检测，适合在多用户环境中使用。

► 智信结果，定量精准

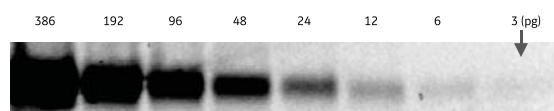
激光共聚焦逐点扫描，动态范围高达5.2个数量级。

Amersham Typhoon采用激光光源，发出的激发光单色性好，能量高，可获得更高的荧光检测灵敏度。共聚焦光路系统保证检测器只接收样品的信号，而避免样品周围背景的干扰，获得图像更清晰，定量准确。逐点扫描模式保证整个样品上的每个位置都接收到完全一致的激发光能量，使得定量更准确。

► 慧眼识真，高精灵敏

新一代增强检测器，检测下限低至3pg。

Amersham Typhoon采用了新一代增强光电倍增管(PMT)作为信号检测器。增强了从蓝光到近红外波段的检测灵敏度，PMT强大的信号放大能力，确保微弱信号可以检测。



样品	羊抗兔二抗重链
成像	激发光 发射滤光片
	685 nm IRshort 720BP20
检测限	3 pg
动态范围	5.2个数量级
线性度	$R^2=0.9988$, $k=1.00$

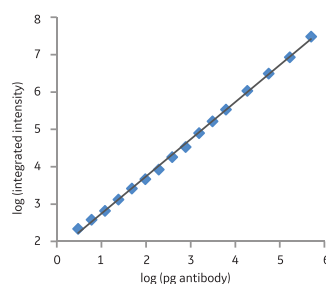


图8. *二抗按两倍倍比稀释，用Amersham Typhoon成像。箭头所指为检测限。检测限为3pg且线性动态范围为5.2个数量级。

► 高通量，高分辨率

Amersham Typhoon成像面积达40 × 46 cm，可同时检测20块大小为10 × 8cm的凝胶或蛋白转印膜进行成像，也可同时检测9块96孔板或384孔板，样品间可比性高，减少了工作量和等待时间。Amersham Typhoon像素分辨率高达10μm，提供高质量清晰图像，1000μm的快速预成像功能可提供快速的样品预览，方便用户直接选定正确的设置进行操作。Amersham Typhoon成像速度快，在像素为200μm时，一个10 × 15cm的样品仅两分钟内便可完成成像。

► 轻松入门，灵活升级

Amersham Typhoon根据配置不同分为Typhoon 5, Typhoon RGB, Typhoon NIR, Typhoon IP四个型号, 每个型号都可以灵活升级。人性化设计的软件, 简单易用, 可快速掌握。

Amersham Typhoon 可同时安装9个滤光片, 标配6种Band Pass带通滤光片, 能够精确过滤发射光, 有效减少杂光干扰, 避免不同通道间产生信号交叉干扰。可选3种Long Pass长通滤光片, 兼容订制滤光片安装。轻松实现极佳成像条件。

■ 发射滤光片

滤光片	波长范围(nm)	检测染料种类
IP	BP390	Phosphorimaging
Cy2 525BP20	515 to 535	Cy2, GFP
Cy3 570BP20	560 to 580	Cy3
Cy5 670BP30	655 to 685	Cy5
IRshort 720BP20	710 to 730	Alexa Fluor 700, Cy5.5, IRDye™ 680
IRlong 825BP30	810 to 840	Alexa Fluor 790, IRDye 800



图9. 用户可以轻松更换滤光片。

多种样品平台(图10)为不同样品的正确放置和极佳成像提供稳定保障。Amersham Typhoon可使用的样品包括琼脂糖和聚丙烯酰胺凝胶、印迹膜、蛋白芯片、同位素标记的样品, 还可以使用多孔板。配合多样品平台, 该系统可同时成像两块21.5×27.5cm的DIGE凝胶。样品平台均可以从仪器取出, 清洗方便。

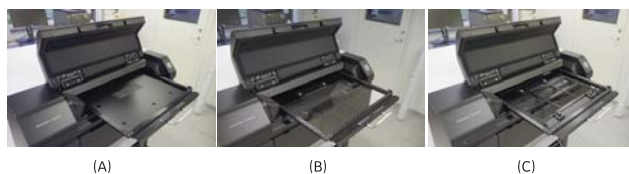


图10. (A) 磷屏平台 (B) 低荧光平台 (C) 多样品平台

扩展应用

Amersham Typhoon 应用广泛, 除了荧光Western blotting检测外, 还可应用于DNA指纹技术、基因定位、克隆子测序前检测、多重PCR检测、EMSA、Click Chemistry、转基因植物筛选、蛋白芯片, 同位素检测, 药物代谢分析等试验研究。

蛋白芯片

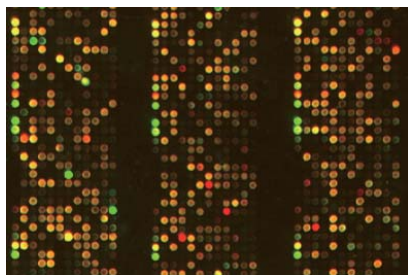


图11. *Amersham Typhoon成像蛋白芯片。Cy5标记激发光635nm, 滤光片Cy5 670BP30, 显示红色, Cy3标记激发光532nm, 滤光片Cy3 570BP20, 显示绿色。

孔板成像

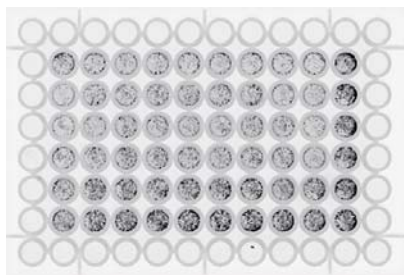


图12. *Amersham Typhoon扫描染色的96孔细胞培养板。激发光635nm, 滤光片Cy5 LPR660。在96孔板中培养细胞, 加入不同药物处理, 使用SRB比色法检测细胞增殖情况。活细胞被SRB染料染色, 成像时可检测到稳定信号, 结果直观清晰, 也可根据灰度值进行定量分析。

转基因植物

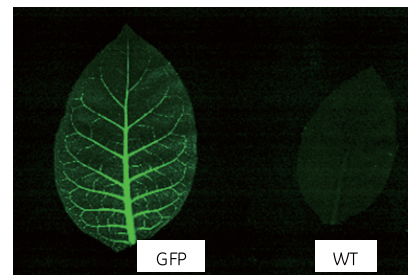
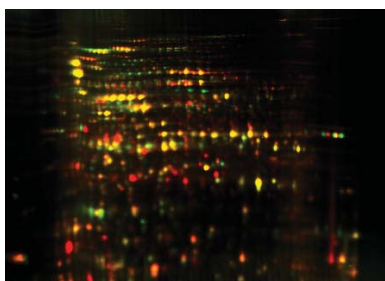


图13. *Amersham Typhoon扫描烟草叶片。激发光488nm, 滤光片Cy2 525BP20, 转入GFP标签蛋白叶片呈现绿色信号, 野生型叶片无明显信号, 可直接进行定量分析。

2-D DIGE

2-D DIGE 荧光差异双向电泳是一种精确定量蛋白质组表达变化的解决方案。Amersham Typhoon是 Ettan™ DIGE 系统不可或缺的一部分，与Melanie™ 8软件，共同组成Ettan™ DIGE系统(图14)。

Amersham Typhoon可直接扫描带低荧光玻璃板的2-D DIGE凝胶，凝胶不卸胶不变形，提高胶与胶之间匹配率。它可在同一次成像中同时测量低丰度蛋白质和高丰度蛋白质，并具备高灵敏度和宽线性动态范围。这使其非常适合2-D DIGE，可使用户检测到并精确定量蛋白质表达的微小变化。Amersham Typhoon配置的激光器和发射滤光片能够很好检测CyDye DIGE荧光染料，使用Melanie™ 8对图像进行分析，可精确检测蛋白质丰度的微小变化。

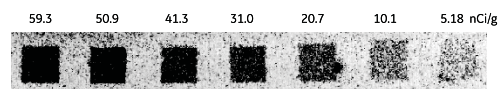


样品	1-对照样品 大肠杆菌细胞裂解液
	2-处理样品 用苯甲酸处理过的大肠杆菌细胞裂解液
IPG干胶条	24cm 3-10 NL
凝胶	预制的低荧光 DIGE 凝胶
成像	激发 发射滤光片
Cy2	488nm Cy2 525BP20
Cy3	532nm Cy3 570BP20
Cy5	635nm Cy5 670BP30

图14.*Amersham Typhoon 成像2-D DIGE凝胶的重叠影像。对照和处理过的样品分别用 Cy3和 Cy5 DIGE 荧光染料标记（最小标记法）。内标样品用Cy2 DIGE荧光染料标记。

放射性同位素检测

同位素标记具有标记分子小，灵敏度高等特点，常用于Northern blot、Southern blot、药物代谢分析等。含有放射性同位素的样品用磷屏曝光。在激光激发下，磷屏发出的光与样品中总的放射性成比例(图15)。所有GE healthcare提供的磷屏都与Amersham Typhoon兼容。磷屏同样适用于对X射线或其它离子源信号的检测。磷屏种类有：通用型、高分辨率型、氚屏和中子屏可选。



样品	¹⁴ C标准品 (CFQ12000)，BAS-SR屏曝光3小时
成像	激发光 滤光片 635nm IP BP390
检测限	0.00518μCi/g
动态范围	5.3
线性度	R ² =0.9998, k=1.03

图15.*Amersham Typhoon成像¹⁴C标准品。

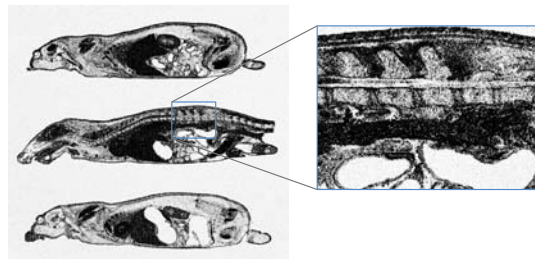
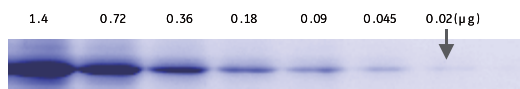


图16.*大鼠注射¹⁴C标记葡萄糖后，Amersham Typhoon对大鼠切片的放射自显影成像。

数字化成像检测

Amersham Typhoon通过荧光板可进行数字化成像，该方法适合检测比色法的染色凝胶，如考染或银染。也可测量OD值，对样品进行定量分析。



样品	碳酸酐酶
成像模式	OD检测
成像	激发光 发射滤光片 532nm Cy3 570BP20
检测限	23ng
动态范围	1.8个数量级
线性度	R ² =0.988

图17.*两倍倍比稀释的碳酸酐酶，电泳后用考马斯亮蓝G-350染色，Amersham Typhoon使用OD检测成像。箭头所指为检测限。检测限为23ng且线性动态范围为1.8个数量级。

数据储存

成像数据以线性16-bit灰阶(.TIF文件格式)，平方根编码的16-bit灰阶(.GEL文件格式)或对数编码的16-bit灰阶(.IMG文件格式)储存。.GEL和.IMG格式在信号水平低时的动态分辨率更佳，适合荧光和磷屏成像检测。

IQ/OQ验证服务

GE Healthcare配有专业的服务工程师，可提供验证服务支持您的设备，包括安装与操作认证(IQ/OQ)、再认证(RQ)和变更控制协议(CCP)。

*图片来自GE内部测试数据

产品参数

产品	Amersham Typhoon 5	Amersham Typhoon RGB	Amersham Typhoon NIR	Amersham Typhoon IP
检测模式:	荧光成像, 磷屏成像, 数字化和化学发光成像	荧光成像, 磷屏成像, 数字化和化学发光成像	荧光成像和化学发光成像	磷屏成像
激光波长:	LD488, SHG532, LD635, LD685, LD785	LD488, SHG532, LD635	LD685, LD785	LD635
可选配激光管:		LD685, LD785	LD488, SHG532, LD635	LD488, SHG532, LD685, LD785
同位素种类:	^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{125}I , ^{18}F , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 和其他电离辐射源	^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{125}I , ^{18}F , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, 和其他电离辐射源		^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{125}I , ^{18}F , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, 和其他电离辐射源
动态范围:	> 5个数量级	> 5个数量级	>5	> 5个数量级
位深:	16-bit	16-bit	16-bit	16-bit
成像面积:	40 × 46 cm	40 × 46 cm	40 × 46cm	35 × 43cm
像素:	10, 25, 50, 100, 200 μm及 预成像1000 μm	10, 25, 50, 100, 200 μm及 预成像1000 μm	10, 25, 50, 100, 200μm及 预成像1000 μm	10, 25, 50, 100和200μm
标准滤光片:	IP 390BP, Cy2 525BP20, Cy3 570BP20, Cy5 670BP30, IRshort 720BP20, IRLong 825BP30	IP 390BP, Cy2 525BP20, Cy3 570BP20, Cy5 670BP30	IRshort 720BP20, IRLong 825BP30	IP 390BP
可选滤光片:	Cy2 LPB515, Cy3 LPG550, Cy5 LPR660	Cy2 LPB515, Cy3 LPG550, Cy5 LPR660, IRshort 720BP20, IRLong 825BP30	IP 390BP, Cy2 525BP20, Cy3 570BP20, Cy5 670BP30, Cy2 LPB515, Cy3 LPG550, Cy5 LPR660	Cy2 525BP20, Cy3 570BP20, Cy5 670BP30, IRshort 720BP20, IRLong 825BP30, Cy2 LPB515, Cy3 LPG550, Cy5 LPR660
样品平台:	荧光平台, 多样品平台和磷屏平台	荧光平台, 多样品平台和磷屏平台	荧光平台, 多样品平台	磷屏平台
外形尺寸 (W×H×D):	900 × 400 × 800 mm	900 × 400 × 800 mm	900 × 400 × 800 mm	900 × 400 × 800 mm
重量:	94 kg	93 kg	93 kg	92 kg

订货信息

产品	货号
Amersham Typhoon 5	29-1871-91
Amersham Typhoon RGB	29-1871-93
Amersham Typhoon NIR	29-2385-83
Amersham Typhoon IP	29-1871-94
分析软件	
IQTL 8.1 and IQTL SecurITy 8.1 Software Package	29-0006-05
IQTL 8.1 node locked license	29-0007-37
IQTL Security 8.1, node locked license	29-0007-40
IQTL 8.1, 5×1 node locked license	29-0008-10
可选配件	
Amersham Eraser	29-1871-90
Accessory Cabinet AmTyphoon	29-1916-73
SlideGlass holder Amersham Typhoon	29-1915-21
33 × 42 glass plate guide Amersham Typhoon	29-2155-14
Custom filter boxes Amersham Typhoon	29-1915-40

产品	货号
BAS-IP MS 2040 E Phosphorimaging plate, 20 × 40 cm, multipurpose	28-9564-74
BAS-IP MS 2025 E Phosphorimaging plate, 20 × 25 cm, multipurpose	28-9564-75
BAS-IP MS 3543 E Phosphorimaging plate, 35 × 43 cm, multipurpose	28-9564-76
BAS-IP SR 2040 E Phosphorimaging plate, 20 × 40 cm, high resolution	28-9564-77
BAS-IP SR 2025 E Phosphorimaging plate, 20 × 25 cm, high resolution	28-9564-78
BAS-IP TR 2040 E Phosphorimaging plate, 20 × 40 for Tritium detection	28-9564-81
BAS-IP TR 2025 E Phosphorimaging plate, 20 × 25 for Tritium detection	28-9564-82
Exposure Cassette Unmounted Screen, 20 × 25 cm	63-0035-44
Exposure Cassette Unmounted Screen, 35 × 43 cm	63-0035-45



关于GE医疗集团

GE医疗集团通过提供革新性的医疗技术和服 务，开创医疗护理的新时代。我们在医学成 像、信息技术、医疗诊断、患者监护系统、 药物研发、生物制药技术、卓越运营和整 体运营解决方案等领域拥有广泛的专 业技术，能够帮助客户以更低的成本为全 世界更多的人提供更优质的服务。此外， 我们还和医疗行业领袖一道，正努力通过 全球政策，打造成功的、可持续的医疗体 系。

我们的“健康创想”愿景普及全球。我们 不断通过创新在世界范围内推动降低医疗 成本、增加医疗机会、提高医疗质量。GE 医疗集团总部设在英国，是通用电气公司 (纽约证券交易所：GE) 下属的业务集团 之一。GE 医疗集团的员工分布于全球 100 多个国家和地区，致力于为医疗专业人士 和患者服务。欲了解更多有关 GE 医疗集 团信息，请致电客服热线或访问公司网站。

全国免费客服热线：800-810-9118

GE医疗中国

北京办公室

北京市经济技术开发区
同济南路1号
邮政编码：100176
电话：010-58068888
传真：010-67872812

上海办公室

上海市张江高科技园区
华佗路1号
邮政编码：201203
电话：021-38777888
传真：021-38777451

广州办公室

广州市天河区珠江新城花城大道87号
通用电气大厦10楼
邮政编码：510623
电话：020-38157777
传真：020-38157797

成都办公室

成都市高新西区西芯大道3号
创智联邦3号楼、4号楼
邮政编码：611731
电话：028-62722345
传真：028-62722464