

# Cell-Based ELISA | 解您多样本WB检测之困扰

原创 市场 Immunoway生物 2022-04-07 17:56



## Western Blot过程中有没有这样的困扰？

- 1 多个样本同时做Western Blot检测，太耗费精力；
- 2 细胞裂解不充分，样本处理方式选择不合适，总蛋白、目的蛋白提取不充分；
- 3 内参多次调不平；
- 4 多次实验结果重复性不佳；
- 5 修饰性蛋白容易降解，其与Total蛋白不能同时检测；

.....

基于这些困扰Immunoway研发出Cell-Based ELISA, 一种基于细胞水平的蛋白原位、半定量检测方法。为您蛋白半定量检测多一个选择。

Cell-based ELISA, 该方法于2006年Nature Methods的一篇Quantification of Activated Signal Transduction Proteins Using FastActivated Cell-based ELISAs (FACE™)做了详细的介绍。并同时与westernblot方法进行了比较，所得结果具有一致性。





## 01 准确性高

- a 不需要裂解细胞, 原位检测, 最大限度的保证细胞和蛋白的天然状态, 所得蛋白检测结果更准确。
- b 无需内参蛋白的检测 (因细胞数量差异导致对目的蛋白表达量的影响)。通过结晶紫染色细胞核来对细胞进行计数, 通过数据分析计算单个细胞目的蛋白表达的相对含量。
- c 一次实验可以设置多个平行, 同一实验的多次重复, 数据做显著性差异分析, 结果更有说服力。



## 02 高通量

试剂盒中带有96孔细胞培养板, 实现96个样本同一目的蛋白的同时检测。满足多条件的实验需求, 如:

- a 样本不同药物的同时刺激处理;
- b 药物浓度, 实验时间的预实验摸索;
- c 不同细胞系同一指标的检测;
- d 一次实验轻松实现多个平行设置;
- e 同一实验, 轻松实现多次重复;

.....



## 03 操作简便

- a 无需裂解细胞, 跑胶, 转膜, 调平内参等操作;
- b 96孔细胞培养板种细胞, 对细胞进行处理, 待检测目的蛋白时对细胞固定, 封闭, 加一抗, 二抗, TMB显色后酶标仪读数, 处理数据即可。
- c 除4%多聚甲醛所需试剂均在试剂盒中, 包括一抗, 二抗和辅助试剂等。

## 04 无需特殊仪器

普通酶标仪即可实现：

目的蛋白检测是TMB显色后，读取OD450；  
细胞数量检测是结晶紫染色后，读取OD595。

## 05 更适合修饰性蛋白检测

- a 无需裂解细胞，最大限度的降低修饰性蛋白的降解；
- b 修饰性蛋白与目的蛋白抗体同在试剂盒中，可实现同时检测。

## 06 数据处理不繁琐

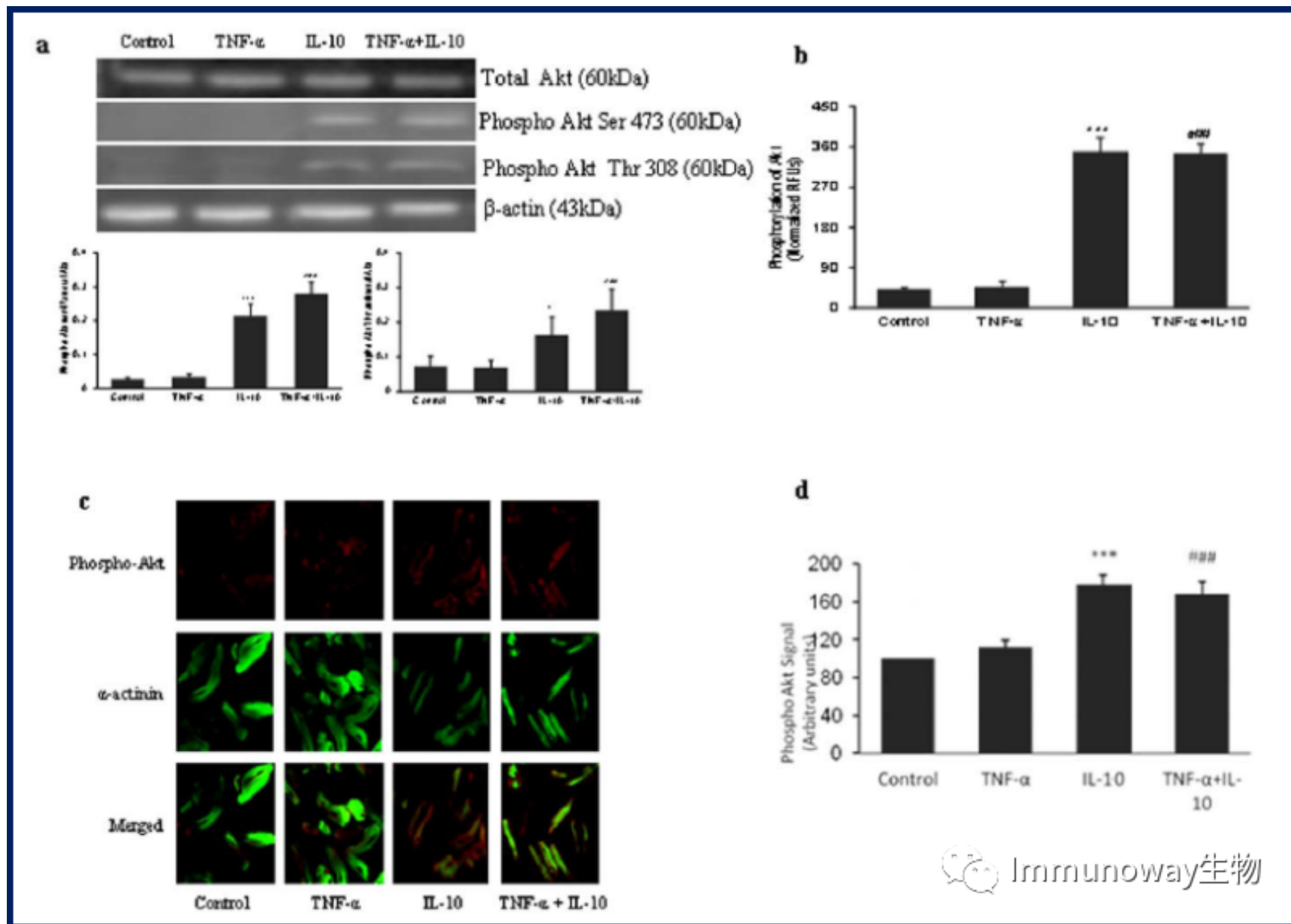
目的蛋白读取OD450，细胞数量读取OD595，所得数值进行比值处理；  
OD450/OD595即为样本中目的蛋白单个细胞表达的相对含量；  
再进行孔与孔之间目的蛋白相对含量的差异比较。

适用类型

### 案例1 多个平行，多次重复设置

Title: Akt Regulates IL-10 Mediated Suppression of TNF $\alpha$  Induced Cardiomyocyte Apoptosis by Upregulating Stat3 Phosphorylation.





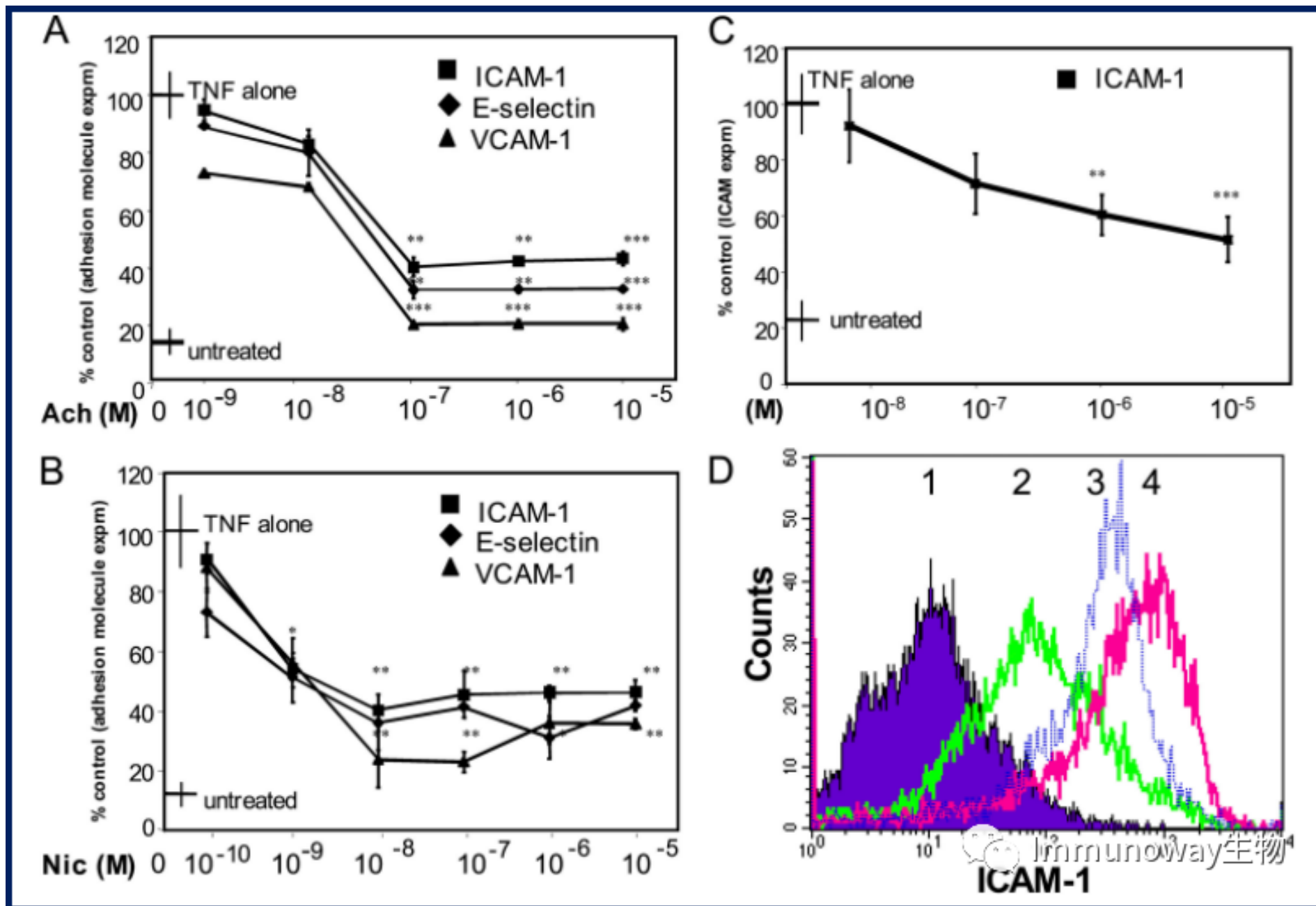
**Figure 2. Effects of TNF- $\alpha$  (10 ng/ml), IL-10 (10 ng/ml), TNF- $\alpha$ +IL-10 (ratio 1) on Akt phosphorylation in adult rat cardiomyocytes. a) Upper panel, western blot analysis using specific Akt antibodies and  $\beta$ -actin as an internal control; Lower panel, densitometric analysis and the values are ratios of phosphorylated to total Akt serine 473 (left panel) and threonine 308 (right panel); and b) Show Akt phosphorylation as measured by cell based ELISA, values are normalized as relative fluorescence units (RFU's). c and d) Immunofluorescence. cells were stained with phospho-Akt antibody and secondary antibody Alexa Flour 555. Flourescein phalloidin was used to stain  $\alpha$ -actinin. Representative fluorescence microscopical images of cardiomyocytes (c). Quantification of the Akt expression. Data are expressed as mean  $\pm$  SEM from 4-6 independent experiments and \*\*\*P<0.001 significantly different from the control group; ###p<0.001 significantly different when compared with TNF- $\alpha$  group. doi:10.1371/journal.pone.0025009.g002**

数据b是4-6次实验，所得数据做显著性差异分析，数据更可靠，准确。Phospho-Akt， Immunoway推荐货号[KA1012C](#)，[KA1015C](#)。

## 案例2 多种药物，不同浓度的样本处理

Title: Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation.





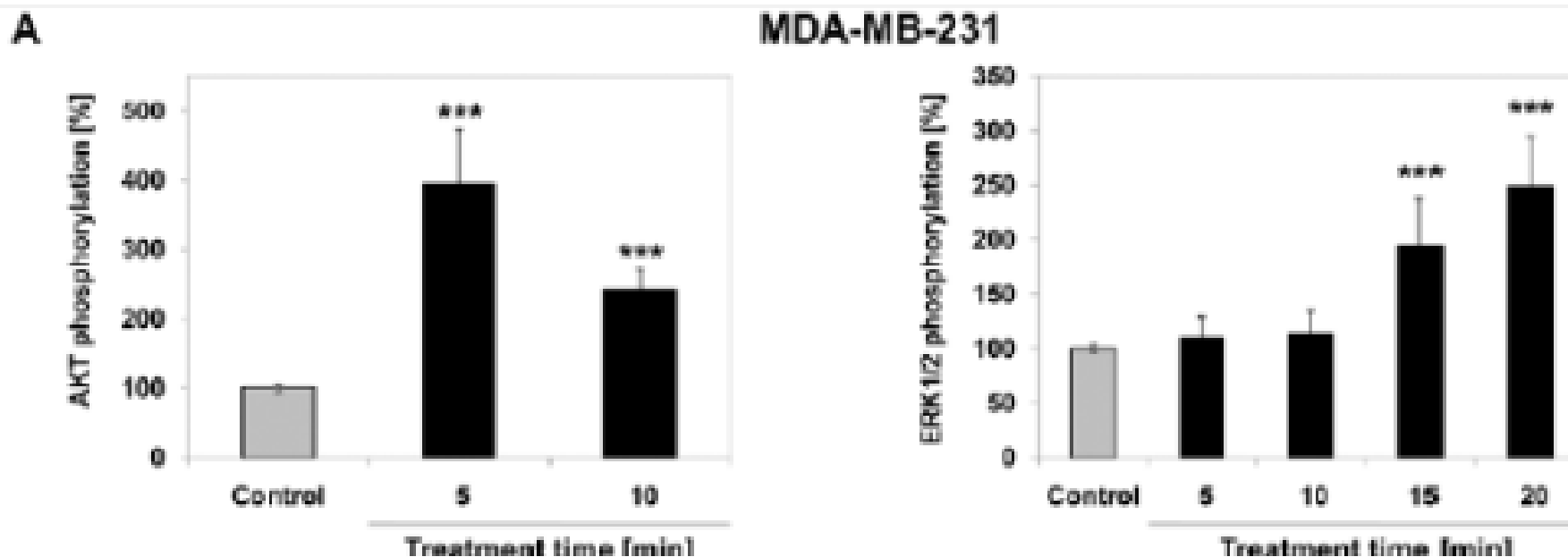
**Figure 3. ACh and cholinergic agonists block adhesion molecule expression by TNF-treated endothelial cells in vitro.** Confluent monolayers of HuMVECs were untreated, treated with TNF (1 ng/ml) alone or were treated with (A) ACh, (B) nicotine, or (C) CAP55 before TNF stimulation (1 ng/ml). Cell surface expression of ICAM-1 (■), E-selectin (◆), or VCAM-1 (▲) was determined using a cell-based ELISA method. 100% represents 0.55 (0.04), 1.12 (0.05), and 0.864 (0.03) OD ( $\pm$ SD) at 450 for E-selectin, ICAM-1, and VCAM-1, respectively. \*,  $P < 0.05$ , \*\*,  $P < 0.01$

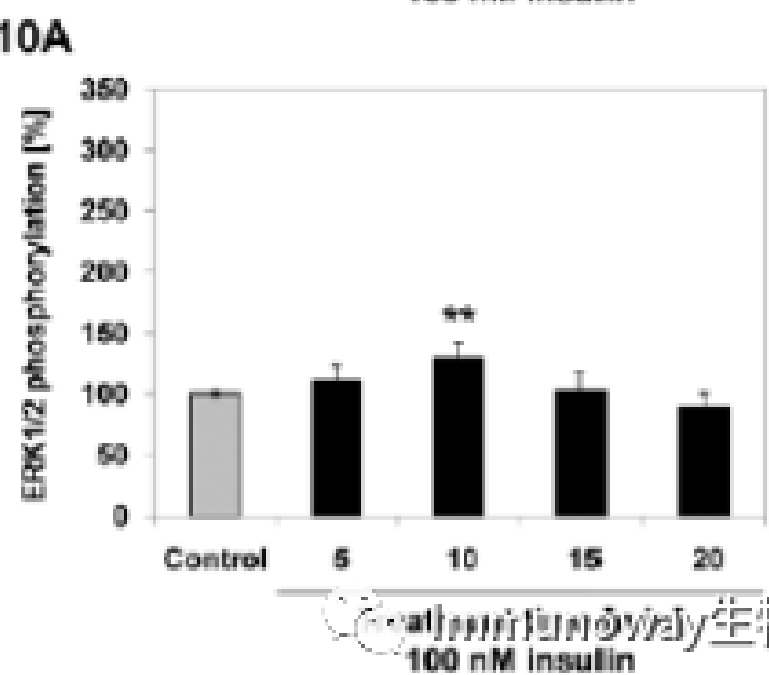
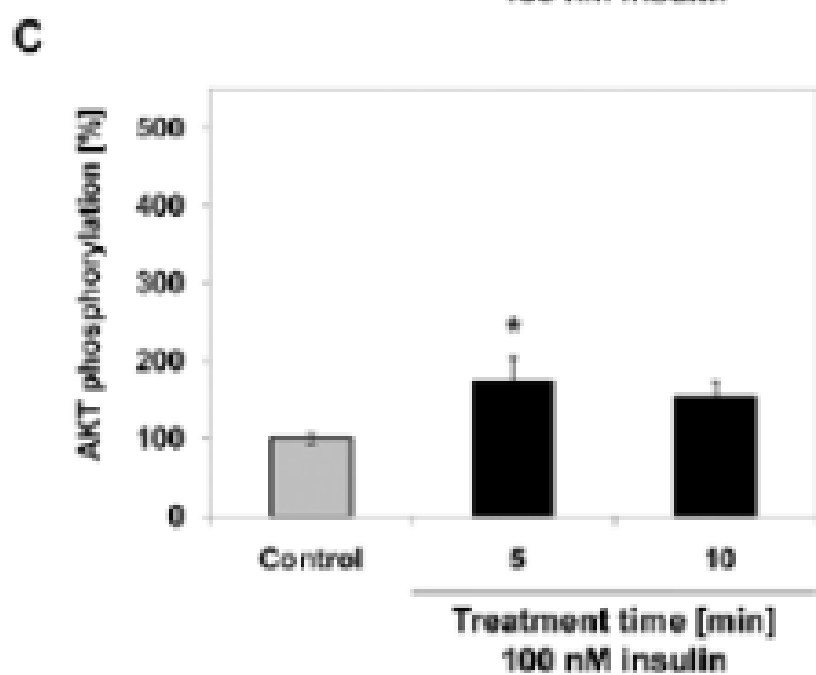
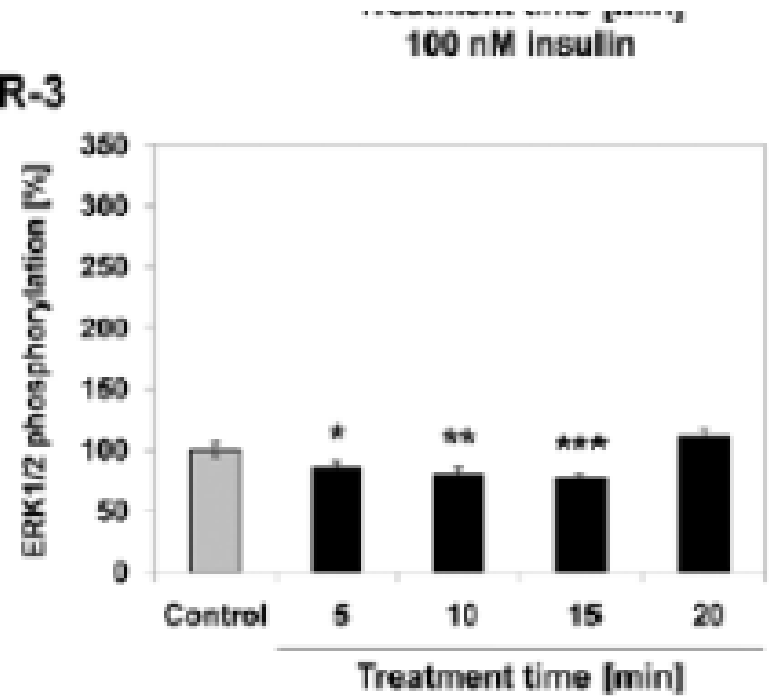
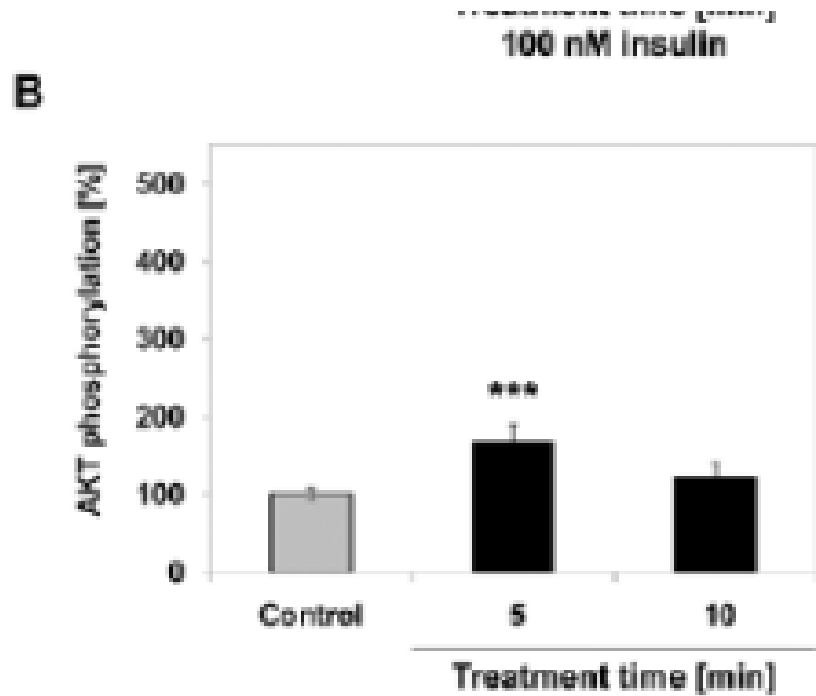
comparing treatment + TNF versus TNF alone using the Student's *t* test. Data are shown as the percent control ( $\pm$ SD), with TNF alone as control. (D) ICAM-1 expression was assessed using flow cytometry methods (mean fluorescence intensity, MFI) using ICAM-1-specific antibodies: (1) untreated cells (isotype control), MFI = 29; (2) untreated cells, MFI = 164; (3) nicotine ( $10^{-6}$  M) + TNF (1 ng/ml), MFI = 164; (4) TNF alone, MFI = 677.

数据A, B, C均是Cell-Based ELISA检测数据，轻松实现多种药物，多个浓度，多个指标的同时检测。ICAM-1 Immunoway推荐货号 [KA4126C](#)

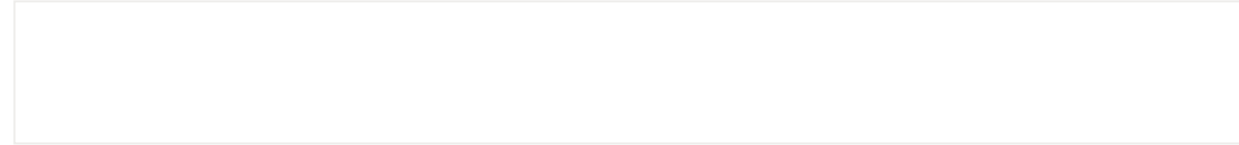
### 案例3 多细胞系同一指标的检测

Title: A novel role for insulin resistance in the connection between obesity and postmenopausal breast cancer.









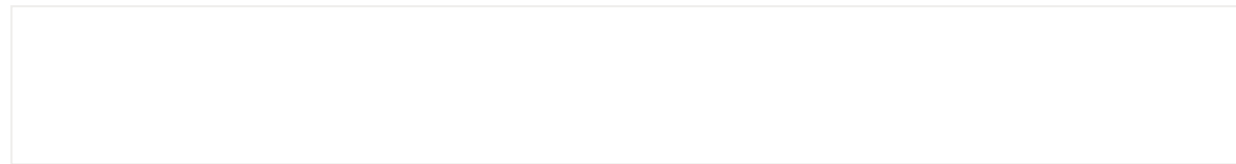
数据A, B, C均是Cell-Based ELISA检测数据，轻松实现多细胞系、多次重复实验数据的检测。Phospho-ERK1/2, Immunoway 推荐货号 [KA1567C](#)，[KA1568C](#)。

#### 案例4 摸索药物刺激最佳时间

---

Title: Differential chemoattractant response in adipocytes and macrophages to the action of acylation stimulating protein.

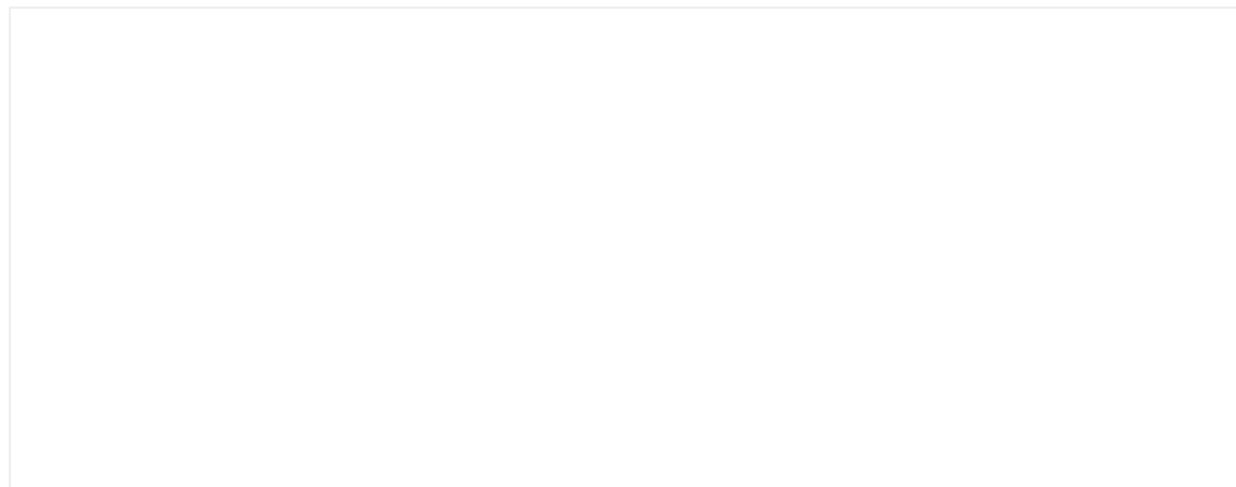




数据A, B, C, D均是Cell-Based ELISA检测数据，多个时间条件的设置，摸索药物刺激最佳时间后，设置不同条件的处理检测。Immunoway Phospho-NF  $\kappa$  B-p65 (S536) 推荐[KA1122C](#)，Phospho-NF- $\kappa$  B p65 (S468) 推荐[KA1623C](#)。

## 案例5 修饰性蛋白与Total蛋白同时检测

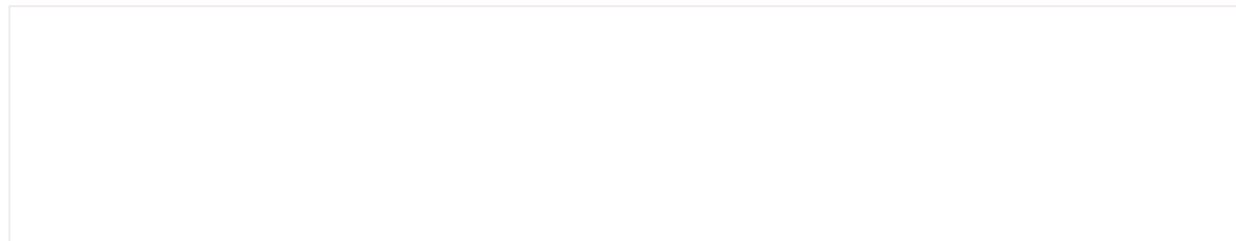
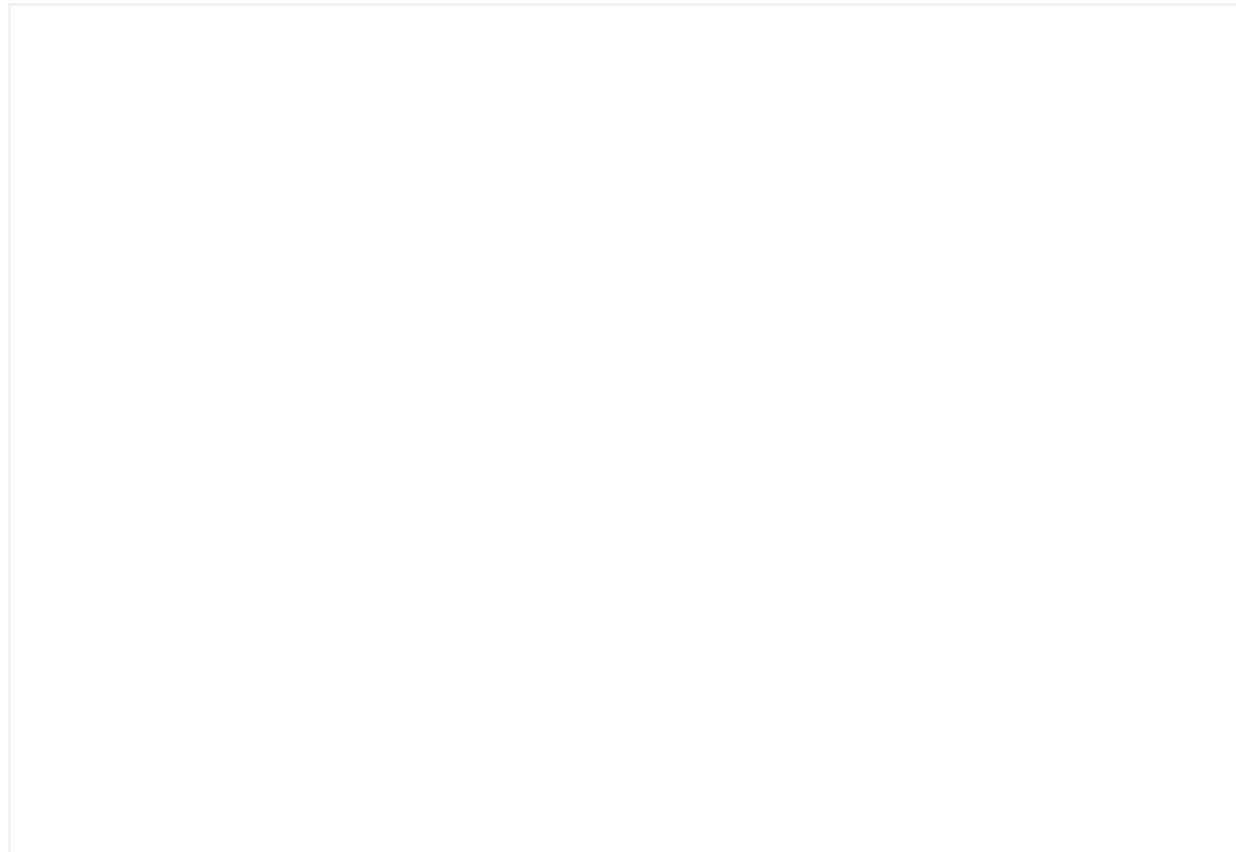
Title: Salvianolic acid B inhibits platelets-mediated inflammatory response in vascular endothelial cells.



轻松实现样本不同诱导条件的处理，phospho-Ser536 NF- $\kappa$ B p65 and total p65的同时检测。数据应用Immunoway试剂盒Phospho-NF $\kappa$ B-p65 (S536) Cell-Based Colorimetric ELISA Kit ([KA1122C](#))。

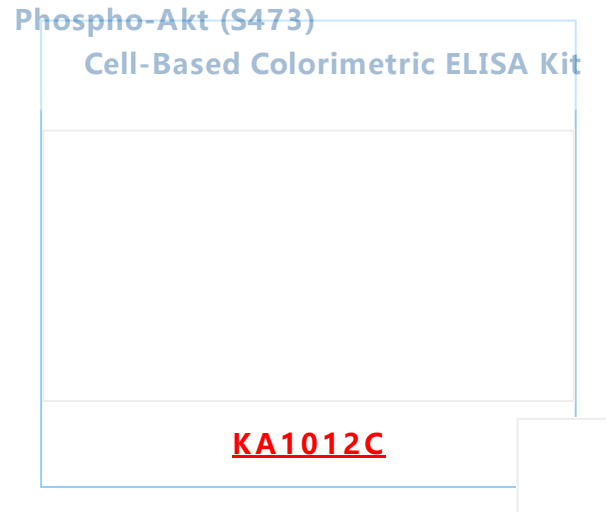
Title: Infectious bursal disease virus-induced activation of JNK signaling pathway is required for virus replication and correlates with virus-induced apoptosis.



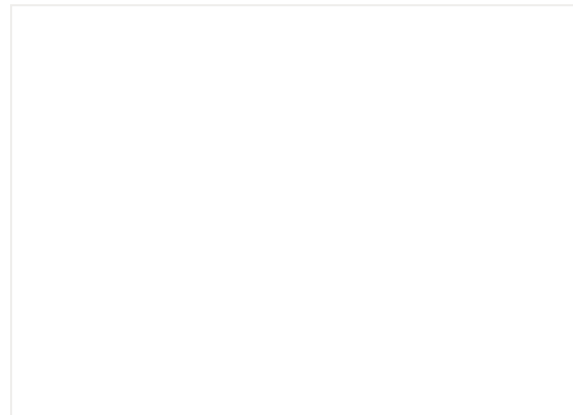


轻松实现样本不同时间处理，修饰性蛋白和Total蛋白的同时检测。Immunoway Phospho-JNK1/2推荐[KA1294C](#)

### 组成成份举例



### 实验简略步骤



- 1 将细胞种于96孔培养板中。
- 2 培养细胞，根据实验设计对细胞进行不同条件的处理。
- 3 待检测目的蛋白时，对细胞进行多聚甲醛的固定、灭活、打孔及封闭非特异性结合位点。加入一抗孵育与目的蛋白质结合，加入HRP标记二抗与一抗结合，底物显色后酶标仪读取数值OD450。
- 4 加入细胞核结合染料结晶紫检测细胞数量，酶标仪读取数值OD595。
- 5 数据处理OD450/OD595。

Immunoway当前拥有Cell-Based ELISA数量2000+，[更多信息可官网搜索相关产品链接哦！](#)

### 公司简介：

ImmunoWay Biotechnology Company（简称Immunoway）公司成立于2002年，于2012年在美国德克萨斯州注册品牌。

自公司成立一直专注于抗体的研发和生产，抗体种类达18000+，单克隆抗体种类2000+，多克隆抗体15000+，二抗1000+，检测液态样本Elisa试剂盒700+，检测细胞样本Cell-Based Elisa Kits3000+，满足广大科研用户的使用和需求。

公司于2014年投入研发**免疫组化专用抗体**，国际单克隆抗体著名专家指导研发，免疫原针对免疫组化实验而设计，单克隆细胞株的筛选，抗体的验证均经过千张阳性切片和阴性切片检测，明确组织定位和亚细胞定位，**抗体特异性强，灵敏度高，低背景，按照体外诊断试剂备案和注册要求研发生产**。临床免疫组化应用于病理的辅助诊断和鉴别诊断，为疾病治疗提供客观的指导方案。目前抗体种类已近200种，覆盖肿瘤病理诊断，如乳腺癌，宫颈癌，结肠癌，胃癌，肝癌，淋巴瘤，前列腺癌，甲状腺癌等所需检测指标的绝大部分。

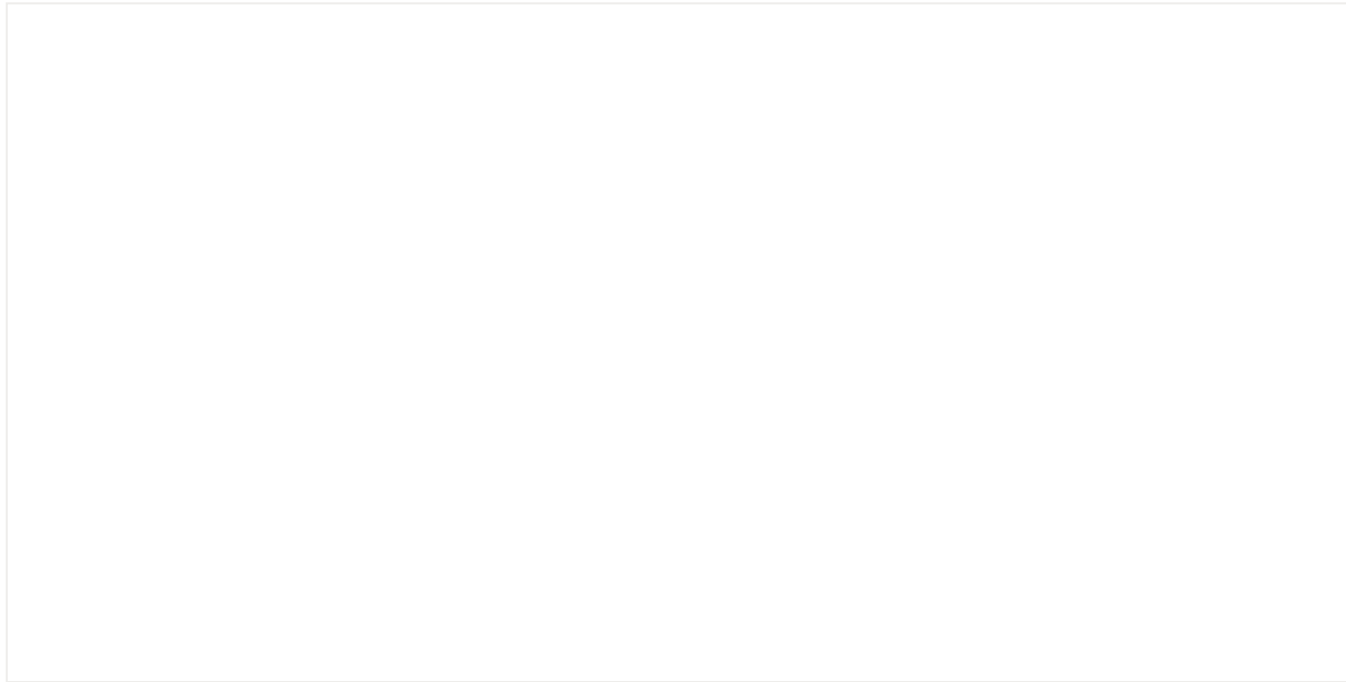
公司2022年新增基因工程纳米研发生产平台，陆续推出纳米抗体产品，用于治疗性抗体药物、诊断试剂、亲和纯化基质和科学研究等领域。新增流式抗体研发和生产平台，抗体荧光标记等，满足临床和科研用户流式细胞分析实验需求。

Immunoway将不断研发和生产出优质的抗体及相关产品，为临床和广大科研工作者提供更好的工具，共同服务于生命科学。

欢迎拨打400-8787-807

欢迎登陆网站[www.immunoway.com](http://www.immunoway.com)

更多精彩内容，请长按二维码▼



喜欢此内容的人还喜欢

**ASSAY BIOTECH和IMMUNOWAY BIOTECH正式合并**

Immunoway生物