تکنیک مولکولی وسترن بلات

وسترن بلاتینگ یکی از روشهای بلاتینگ است که برای تشخیص و آنالیز پروتئین‌ها استفاده می‌شود. این روش یک آزمایش تأییدکننده است و وجود نوعی پادتن (ایمونوگلوبولین نوع جی) علیه چند نوع پروتئین ویروسی را بررسی می‌کند .

این روش در مقایسه با تست الیزا، اختصاصی‌تر است ولی از حساسیت کمتری برخوردار است و چون آزمایشی نسبتاً گرانی محسوب می‌شود، به عنوان اولین آزمایش انجام نمی‌گیرد و بیشتر در تأیید نتایج مثبت شده تست الیزا بکار می‌رود .

تست وسترن بلات در همراهی با تست الیزا، بیش از ۹۹٪ مورد اطمینان خواهد بود.

در تکنیک ELISA پروتئین ها در سطح حفرات پلیت پوشش داده می شوند و در انتهای آزمایشELISA ، از یک واکنش رنگ زا برای شناسایی انجام واکنش یا عدم انجام آن استفاده میشود.

امروزه برای بسیاری از عفونت های ویروسی و باکتریایی تست تایید وسترن بلات موجود است.

وسترن بلاتینگ که همچنین به ایمونوبلاتینگ یا پروتئین بلاتینگ شناخته شده است، یکی از تکنیک‌های کلیدی در زیست شناسی سلولی و مولکولی است و معمولاً برای شناسایی حضور پروتئین خاصی در مجموعه‌ای از پروتئین‌های سلولی بکار می‌رود. فرایند این تست، به سه فاکتور اساسی بستگی دارد:

1. جداسازی کل پروتئین‌ها بر اساس اندازه با استفاده از الکتروفورز پروتئین در ژل
2. انتقال کافی پروتئین‌های جداشده به یک بستر جامد
3. شناسایی اختصاصی پروتئین هدف با آنتی‌بادی مناسب .

زمانی که پروتئین مورد نظر شناسایی شد، به صورت یک باند بر روی غشاء قابل‌مشاهده می‌شود. تست وسترن بلاتینگ به سرعت می‌تواند صورت بگیرد.

نمونه پروتئینی می تواند یک پروتئین خالص، لیزات باکتریایی و یا سلولی باشد. در این تکنیک ابتدا پروتئینها بر اساس وزن مولکولی به روش الکتروفورز عمودی از هم جدا می شوند. سپس پروتئینهای تفکیک شده با استفاده از جریان الکتریکی به یک غشا انتقال می یابند. این غشا می تواند از جنس نیتروسلولز و یا PVDF باشد.

در مراحل بعدی غشای حاوی باندها با آنتی بادیهای اولیه و ثانویه مناسب انکوبه می شود. آنتی بادی های متصل نشده طی شستشو های متعدد جدا شده و نهایتا پروتئین هدف ما با استفاده از سوبسترای شناساگر مناسب، بصورت باند بر روی غشا قابل مشاهده می شود.

منبع : سایت پایگاه اطلاع رسانی علوم آزمایشگاهی ایران