

FP Assay--藥物篩檢技術的前哨站

謝嚴蔚 撰

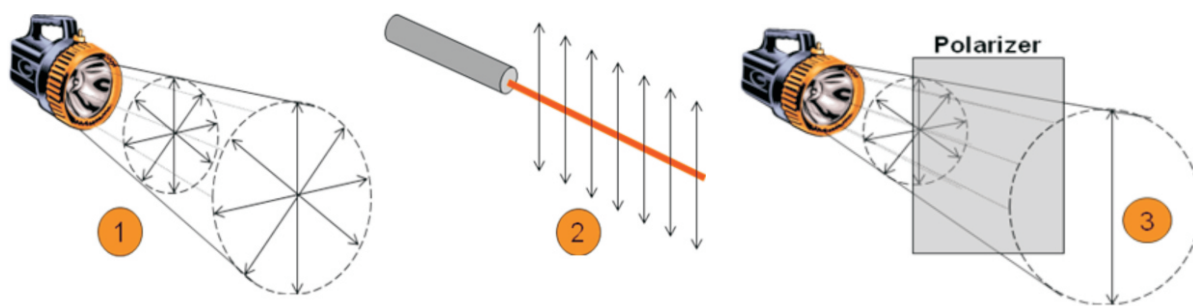
在實驗室裡，為觀察兩個物質(例如藥物與蛋白質或核酸)之間的結合情形?或是否作用?常會以兩種不同的螢光分子分別連接於待測物質上，藉由觀察兩種螢光訊號的差異(或比例)，判斷分子間作用的情形(如FRET Assay，需考慮不同螢光分子的性質，且實驗操作過程較為困難)。自1926年開始，Perrin首創Fluorescence Polarization(暫譯為"偏極化螢光")偵測技術，快速且大量分析生物分子間作用的實驗，變得不再只是想像而已。

FP Assay 近年常運用於藥物篩檢的實驗，其優點在於：1. 節省材料成本，僅需要一個螢光分子；2. 實驗簡單，過程不需清洗；3. 快速且高通量分析，可利用微量孔盤，一次施做大量樣品，實驗花費的時間短；4. 儀器成本低，不需用晶片(Micro array)掃描分析。

美國BioTek公司精心設計的盤式分析儀---Synergy 2，搭載高靈敏度FP偵測系統，精緻的濾鏡系統，大幅提升靈敏度。搭載兩種不同的光源(Xenon Flash / Tungsten lamp)，更可彈性應用於不同的螢光分子(註)。高通量的判讀能力，讓Synergy 2可判讀6~1536孔盤，甚至能判讀一般的石英管以及超微量(2μl)的樣品，提升了醫藥開發與生醫研究的經濟價值。

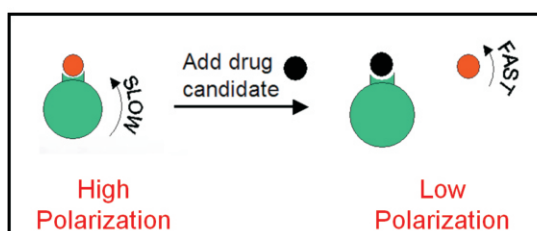
何謂"偏極化螢光"？

光是沒有方向性的。一般生活中常見的光，如日光燈、太陽等是沒有方向性的；而光若有固定的方向，或說有方向性的光，則被稱為極化光或偏光，如雷射或是LCD螢幕的光是有方向性的光。另外，如果透過濾片，亦可固定光的方向性，如某些偏光太陽眼鏡等。(如圖一)



圖一、光的方向性。1.一般的光線沒有方向性；
2.雷射光是有方向的；
3.經過特殊的鏡片可固定光的方向性。

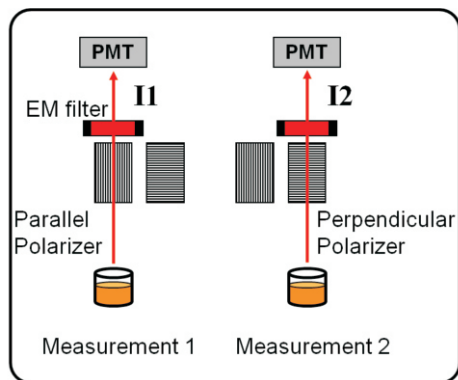
Fluorescence Polarization(FP)是一種藉由固定光的方向，觀察蛋白質之間作用的情形，或做為新藥開發的螢光偵測方式。換句話說，實驗者只需標定螢光分子(fluorescein)在待測物上(如藥物或某個蛋白質)，即可直接觀察物質間是否作用(結合)?(如圖二)



圖二、螢光分子(橘色)連接在Receptor上時，由於整個分子的滾動速度慢，光線變化的速度慢，因此可得到較大的極光值(Polarization);反之，如果連結的位置被專一性較強的藥物所取代，僅剩下單一的螢光分子其光線的變化快，其極光值也會較小

什麼是"極光值"? 如何測量?

如圖三所示，當光線透過 " 垂直 " 濾片時，則會得到一個數值 (I1)；相同地，當光透過 " 水平 " 濾片時，也會得到一數值(I2)。



圖三、I1代表垂直光線的數值；I2代表水平光線的數值

當連結螢光分子的反應物與待測物結合時，整個分子的轉動速度慢，若光線完全極化，則 $I1=1$ ， $I2=0$ ，極光值 $P=1$ (如下方程式)；若專一性不足或是結合不完全時， $I2 < I1$ ，則 $0 < P < 1$ 。

$$P = \frac{I1 - I2}{I1 + I2}$$

因此，我們可將極化螢光的結果歸納成下列幾點：

1. 極化螢光是測量螢光分子轉動的速度
2. 小分子轉動的速度大於大分子轉動的速度
3. 倘若測量的螢光分子fluorescein為小分子，則大約可得到20mP(低的極光值)
4. 若fluorescein與大分子結合，轉動速度變慢，則會得到大的極光值

樣品高通量偵測的需求與日俱增，隨著生物醫學的蓬勃發展，研究者更面臨大量樣品分析與高分析成本的雙重壓力，FP Assay穩定且可靠的螢光偵測技術，正是最佳的實驗方法，Synergy 2更成為高靈敏度與低付出成本的最佳代表。

歡迎參觀BioTek網站：www.biotek.com

歡迎參觀岑祥(BioTek總代理)網站：www.thco.com.tw

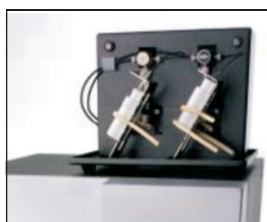
註：大部分的螢光分子都可能因為一再被強光激發(Excitation)，使其產生螢光的能力(Emission)逐漸降低，Tungsten lamp為一穩定光源，可使螢光分子穩定被激發，是長時間觀察螢光表現時最佳的光源系統。Xenon Flash則是一強光系統，可激發大多數的螢光分子，但必須考慮觀察螢光讀值的方式。

High Throughput



The Synergy 2 offers a small footprint, a robotic-friendly carrier for easy integration, and reads a 384-well plate in only 22 seconds.

Wide Range of Applications



Dual reagent injector for ion channel assays, flash luminescence and fast enzyme kinetics.

BioTek
Get a Better Reaction.

