

從 Nature Method 期刊論文 看見「抗體驗證」的重要性

國際抗體驗證工作小組 (IWGAV) 提出五大抗體驗證策略

抗體的專一性不佳常導致實驗結果無法再現，而各家廠商常見提供的 WB/IHC 實驗數據，事實上僅為「應用有效性」的驗證，並不能排除抗體的非專一性結合問題。

有鑒於此，跨國組織【國際抗體驗證工作小組】(IWGAV) 透過 [Nature Method](#) 期刊提出了五大抗體驗證策略 (見右方圖表)，建議抗體至少需通過其中一種驗證，才能證明抗體的專一性。

這五種驗證策略中，Knockout 驗證是最有力且廣為接受的抗體專一性驗證方法。此方法是以 CRISPR-Cas9 或 RNAi 剔除目標基因後，再進行 WB/IHC/ICC 等偵測實驗，以確認抗體不會誤認到任何非專一性目標。如下方範例所示：

五大抗體驗證策略

1 基因驗證法 Genetic

目標蛋白因為基因剔除 (Knockout) 而不表現，抗體不應該辨認到目標蛋白

2 複方驗證法 Orthogonal

以抗體無關的方法學 (例如 MS) 分析比較此方法學與抗體測得目標蛋白表現量的相關性

3 獨立抗體驗證法 Independent Antibody

以多種針對同一目標蛋白但不同抗原辨識位的抗體，互相比較實驗結果

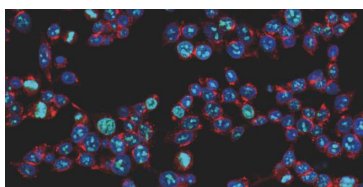
4 標記蛋白表現驗證法 Tagged Protein Expression

驗證目標蛋白的表現量與其標記物的表現量是否正相關

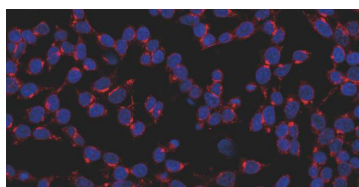
5 免疫沉澱質譜法 IMS

以免疫沉澱 (IP) 捕捉目標蛋白後，進行質譜分析

資料來源: Nat Methods. 2016 Oct;13(10):823-7. doi: 10.1038/nmeth.3995.



HAP1
WT cells
Anti-Ki67 (green)
Anti-tubulin (red)
DAPI (blue)



HAP1
Ki67
KO cells
Anti-Ki67 (green)
Anti-tubulin (red)
DAPI (blue)

KO Validation by ICC.

HAP1 WT (wild-type) and HAP1 Ki67 KO (knockout) cells were used to confirm specificity of anti-Ki67 antibody in ICC.

選擇通過專一性驗證的抗體 讓您的投稿論文更有說服力

隨著 Cell、Nature、Science 等頂尖科學期刊對於刊登內容的「實驗可重現性」的重視，已有越來越多科學期刊要求研究人員在投稿論文時，必須同時提供所使用抗體的相關驗證資訊。因此建議所有研究人員，在購買抗體時注意下列兩點：

1. 抗體供應商是否提供 Knockout 驗證 (KO Validated)。
2. 如果沒有提供，可以查閱相關文獻找出專一性相關的實驗結果，儘可能挑選有實驗數據支持的抗體。

