

© РЕЙПОЛЬСКАЯ Т.Ю., АГЕЕВА Е.В., 2025

Рейпольская Т.Ю.^{1,2}, Агеева Е.В.¹



<https://elibrary.ru/gcpmai>

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ВЕСТЕРН-БЛОТ В НАУЧНЫХ, КЛИНИЧЕСКИХ И БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» 197022, Санкт-Петербург, Россия;

² ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Минобороны России, 194044, Санкт-Петербург, Россия

Вестерн-блоттинг (Вестерн-блот, иммуноблот) представляет собой высокоспецифичный способ идентификации и количественного анализа белков, основанный на их электрофоретическом разделении и детекции с помощью антител. С момента разработки в 1970-х годах метод изменился и совершенствовался, включая автоматизацию, применение микрофлюидных систем и капиллярных платформ. Существуют различные модификации метода, такие как хемилюминесцентный, флуоресцентный, радиоизотопный и количественный вестерн-блоттинг, а также специальные подходы для анализа взаимодействий белков и белок-нуклеиновых комплексов. Метод широко используется в фундаментальных исследованиях для изучения белков: их экспрессии, детекции изоформ, посттрансляционных модификаций, белковых взаимодействий и субклеточной локализации. В клинической практике он применяется в молекулярной диагностике, онкологии, неврологии, эндокринологии, кардиологии и иммунологии. Несмотря на наличие других, более высокотехнологичных методов, таких как масс-спектрометрия, вестерн-блоттинг сохраняет актуальность благодаря своей универсальности и высокой чувствительности. Будущее метода связано с интеграцией с искусственным интеллектом, улучшением детекции и расширением *in situ* подходов, что обеспечит его адаптацию к современным требованиям биомедицинской науки. В данной работе представлена краткая история возникновения вестерн-блоттинга, информация о различных модификациях данного метода, его преимущества и недостатки, применение данного метода в научных и клинических исследованиях, а также перспективы развития. Для написания обзора были использованы научные публикации, найденные с помощью трёх крупных информационно-поисковых систем: Scopus (мультидисциплинарная база данных от Elsevier), Web of Science (мультидисциплинарная база данных от Clarivate Analytics) и PubMed (специализированная база данных по медицине и биологическим наукам Национальной медицинской библиотеки США).

Ключевые слова: обзор; вестерн-блот; антитело; разделение белков

Для цитирования: Рейпольская Т.Ю., Агеева Е.В. Применение метода вестерн-блот в научных, клинических и биомедицинских исследованиях (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (12): 825-830
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-12-825-830>

EDN: GCPMAI

Для корреспонденции: Агеева Елена Викторовна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории липопротеинов имени А.Н. Климова отдела молекулярной биологии, генетики и фундаментальной медицины; e-mail: elena_ag@inbox.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № FGWG-2025-0007 Молекулярно-клеточные механизмы участия макрофагов в регуляции функции эндотелия на разных этапах формирования атеросклеротических поражений).

Поступила 01.09.2025

Принята к печати 13.11.2025

Опубликовано 01.12.2025

Rey wholekaya T.Yu.^{1,2}, Ageeva E.V.¹

APPLICATION OF THE WESTERN BLOTTING METHOD IN SCIENTIFIC, CLINICAL AND BIOMEDICAL RESEARCH (REVIEW)

¹ FSBSI «Institute of Experimental Medicine», 197022, St. Petersburg, Russia;

² Federal State-Funded Military Educational Institution of Higher Professional Education "S.M. Kirov Military Medical Academy" of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, Saint Petersburg, Russia

Western blotting (Western blot, immunoblot) is a highly specific method for identifying and quantifying proteins based on their electrophoretic separation and detection using antibodies. Since its development in the 1970s, the method has been modified and improved, including automation, the use of microfluidic systems and capillary platforms. There are various modifications of the method, such as chemiluminescent, fluorescent, radioisotope and quantitative Western blotting, as well as special approaches for analyzing the interactions of proteins and protein-nucleic acid complexes. The method is widely used in fundamental research to study proteins: their expression, detection of isoforms, post-translational modifications, protein interactions and subcellular localization. In clinical practice, it is used in molecular diagnostics, oncology, neurology, endocrinology, cardiology and immunology. Despite the availability of other high-tech methods, such as mass spectrometry, Western blotting remains relevant due to its versatility and high sensitivity. The future of the method is associated with integration with artificial intelligence, improved detection and expansion of *in situ* approaches, which will ensure its adaptation to the modern requirements of biomedical science. This paper presents a brief history of the emergence of Western blotting, information on various modifications of this method, its advantages and disadvantages, the use of this method in scientific and clinical research, as well as development prospects. To write the review, we used scientific publications found using three major information retrieval systems: Scopus (a multidisciplinary database from Elsevier), Web of Science (a multidisciplinary database from Clarivate Analytics), and PubMed (a specialized database on medicine and biological sciences of the US National Library of Medicine).

Key words: review; Western blotting; antibody; protein separation

For citation: Rey wholekaya T.Yu., Ageeva E.V. Application of the western blot method in scientific, clinical and biomedical research (review of literature). Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2025; 70 (12): 825-830 (in Russ.).

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-12-825-830
EDN: GCPMAI

For correspondence: Ageeva E.V., Ph. D. in Medicine, senior researcher of A.N. Klimov Lipoprotein Laboratory of the Department of Molecular Biology, Genetics and Fundamental Medicine; e-mail: elena_ag@inbox.ru

Information about authors:

Reyapol'skaya T.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-4183-1148>;

Ageeva E.V., <https://orcid.org/0000-0002-7883-6823>.

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Funding. The study was financially supported by the FSBSI Institute of Experimental Medicine «Molecular and cellular mechanisms of participation of macrophages in regulation of endothelial function at different stages of atherosclerotic lesion formation», code No. FGWG-2025-0007

Received 01.09.2025

Accepted 13.11.2025

Published 01.12.2025

ВВЕДЕНИЕ

WB (western blot) – вестерн-блоттинг SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) – электрофорез белков в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия. Метод WB (Вестерн-блот, иммуноблоттинг) используется для анализа белков и считается одним из важнейших достижений молекулярной биологии. Впервые WB был представлен как экспериментальный метод анализа белков в 1979 году. В то время уже применялись качественные и количественные методы анализа, включая хроматографические, но из-за их высокой стоимости, трудоемкости, а главное – ограниченной чувствительности и специфичности – их применимость была ограничена. В то же время росло применение электрофоретических и иммунологических методов анализа различных биомолекул, особенно белков. Однако не существовало высокоспецифичного метода для анализа состава белков в смеси. С учетом этого, G. Stark и H. Towbin [1] разработали один из первых методов и продемонстрировали его эффективность на сложной смеси белков. Вклад H. Towbin заключался в разработке электрофореза SDS-PAGE и электро-трансфера на нитроцеллюлозную мембрану, что позволило проводить детекцию с использованием антител. G. Stark, в свою очередь, усовершенствовал метод переноса белков с помощью капиллярных сил; название техники было предложено Н. Брюtte и должно было отсыпать к более ранним методам [2, 3]: саузерн-блоттингу (для анализа ДНК) и нозерн-блоттингу (для анализа РНК) [4, 5]. Общим принципом всех этих методов является электрофоретическое разделение молекул в геле с последующим переносом на мембрану, где затем проводится специфическая детекция с использованием молекулярных зондов или антител [6, 7]. Механизм разделения молекул основан на различиях в их массе, что обуславливает разные скорости миграции во время электрофореза в полиакриламидном геле с добавлением додецилсульфата натрия [7]. Процесс WB состоит из следующих этапов: этап пробоподготовки в зависимости от типа исходного материала, проведение электрофореза, перенос белков на мембрану, блокирование участков неспецифического связывания, инкубация с первыми и вторыми антителами (первые антитела предназначены для специфического связывания с исследуемым белком, а вторые, конъюгированные с ферментом или специальной меткой, для связывания с комплексом белок-антитело) и детекция сигнала [8]. К недостаткам метода, в первую очередь, относятся сложности, связанные с под-

готовкой материала [9, 10], подбор необходимых условий. Так, было установлено, что нагревание проб, содержащих трансмембранные белки, может приводить к потере белка и ухудшению качества результатов вестерна [10]. Частично эти проблемы решаются автоматизацией и инновациями в области реагентов [11, 12], но при этом остаются технические трудности и риск неспецифического связывания белков [8]. Еще один недостаток – иммунологическая природа анализа. Сложность выбора антител для каждого исследуемого белка и трудности стандартизации значительно выше, чем, например, в методе масс-спектрометрии [13]. Оценка количества содержания белка также остается сложной задачей, несмотря на использование протоколов стандартизации для количественного анализа [13]. Даже небольшие различия в реагентах могут существенно повлиять на результаты, полученные в разных лабораториях [14]. Дополнительной проблемой является субъективность оценки результатов [15].

Модификации Вестерн-блота. Существует несколько модификаций WB, адаптированных для различных исследовательских и клинических задач. Основные различия касаются методов детекции и модификаций протокола [7]. Методы, основанные на модификации детекции: хемилюминесцентный WB использует ферментативную реакцию, испускающую свет; колориметрический WB основан на цветной реакции; флуоресцентный WB позволяет детектировать белки в нескольких каналах одновременно; радиоизотопный WB (использует меченные изотопами антитела для детекции сигнала). Дополнительно используются методы с квантовыми точками и аптамерами, обеспечивающие повышенную чувствительность и мультиплексирование анализа [16-19]. К модификациям метода на этапе электрофореза относятся: 2D WB (разделение белков по массе и изоэлектрической точке); Blue native WB (исследование белковых комплексов в естественных условиях); Dot blot и slot blot (анализ белковых зон/белковых полос без электрофореза). Также существуют капиллярный вестерн-блот (Simple Western), микрофлюидный вестерн-блот (μ WB) и количественный вестерн-блот (qWB), отличающиеся автоматизацией процесса и высокой точностью количественного анализа [20]. Современное оборудование позволяет определять количества белков, исчисляемых нанограммами, что может служить ценным инструментом для диагностики различных заболеваний и определения стадий патологических процессов.

Особенности использования WB в научных исследованиях. WB остается одним из ключевых инструментов молекулярной биологии, позволяя анализировать экспрессию белков, их модификации и взаимодействия. Идентификация белков: метод широко используется для изучения экспрессии белков в тканях и клетках, а также для исследования вирусных и бактериальных белков [21, 22]. Позволяет выявлять изоформы белков, возникающие в результате альтернативного сплайсинга и посттрансляционных модификаций [23]. Исследование белковых взаимодействий: применяется для изучения белок-белковых и белок-нуклеиновых взаимодействий, что важно для анализа механизмов регуляции экспрессии генов и репарации ДНК [23]. При помощи WB можно исследовать процесс ацетилирования в гистонах, влияющего на структуру хроматина, что является важным показателем в изучении эпигенетической регуляции генов. WB позволяет исследовать также особенности фосфорилирования, убиквитинирования и других модификаций белков, влияющих на их функции [24–26]. Определение внутриклеточной локализации белков: WB помогает определять функции и локализацию исследуемых белков в клетке [15, 27]. WB продолжает развиваться, обеспечивая точные и надежные данные для фундаментальных и прикладных исследований в биологии и медицине.

Примеры применения WB в клинических исследованиях

Молекулярная диагностика и клиническая фармакология. WB благодаря универсальности применения, также широко используется в клинических исследованиях, проводимых в различных областях медицины. Первой следует описать область молекулярной диагностики, поскольку это объединяющий термин для большинства применений WB в клинических исследованиях. Молекулярная диагностика – это область лабораторной медицины, использующая методы молекулярной биологии, включая WB, для анализа материалов, в особенности генетического и белкового, с целью выявления заболеваний, мутаций и патогенов. В клинических исследованиях именно молекулярная диагностика играет решающую роль в раннем и точном процессе распознавания заболеваний, мониторинге эффективности применяемой терапии и оценке влияния лечения на организм пациента. В некоторой степени она также может служить инструментом в исследованиях эффективности диагностических методов, например, в качестве эталонного стандарта [28]. В клинической практике для повышения диагностической чувствительности и специфичности WB все чаще используется мультиплексный подход, позволяющий одновременно анализировать множество биомаркеров в одном образце. Кроме того, развитие автоматизированных систем повышает воспроизводимость результатов [15]. Эта методика также позволяет оценивать динамические изменения уровней белков в ответ на различные стимулы, что важно в исследованиях таргетной терапии и молекулярной фармакологии. Риск ложных выводов является важной проблемой, особенно при необычном использовании или модифицированном протоколе WB, поэтому рекомендуется использование параллельных методов валидации, например, массспектрометрии [15].

Онкология. Одной из областей медицины, в которой

WB играет особенно важную роль, является онкология. Причем его применение не ограничивается какой-либо одной группой злокачественных новообразований, а остается универсальным. В частности, WB особенно полезен при выявлении белков, играющих ключевое значение в развитии онкологических заболеваний. К ним относятся транскрипционные факторы, сигнальные киназы, проапоптотические и антиапоптотические белки, а также элементы цитоскелета. Изменения в экспрессии этих молекул могут указывать на развитие опухолевого процесса, его стадию, ответ на терапию [29]. При раке молочной железы WB используется для анализа экспрессии эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов, а также рецептора HER2, что имеет большое значение для классификации подтипов рака молочной железы и выбора оптимальной терапии [30, 31]. При раке предстательной железы данный метод позволяет оценивать уровень белков, таких как PSA (простат-специфический антиген) и AR (андrogenный рецептор), играющих важную роль в прогрессировании данного рака и определяющих чувствительность к гормональной терапии [32]. В случае рака толстой кишки WB позволяет выявлять белки, ассоциированные с сигнальными путями, такими как Wnt/β-катенин, PI3K/AKT и MAPK/ERK, которые играют фундаментальную роль в пролиферации раковых клеток и их способности к инвазии и метастазированию [33]. Кроме того, этот метод позволяет анализировать экспрессию маркеров апоптоза, таких как Bcl-2, Bax и каспазы, что важно для оценки эффективности противоопухолевой терапии [34]. WB также широко применяется в онкогематологии, где он используется для анализа экспрессии регуляторных белков, отвечающих за неконтролируемую пролиферацию гемопоэтических клеток, таких как c-Myc, p53 или химерных белков, например, BCR-ABL1 при хроническом миелоидном лейкозе [35]. Этот метод позволяет отслеживать эффекты таргетных терапий, таких как ингибиторы тирозинкиназ (например, иматиниб), посредством оценки уровня экспрессии белков сигнальных путей, ответственных за рост и выживание раковых клеток [36]. Дополнительным преимуществом WB в онкологии является его применение для анализа белков, связанных с механизмами резистентности к системной терапии. Многие виды рака развиваются устойчивость к лечению за счет изменений в экспрессии транспортных белков лекарственных средств (например, P-gp/MDR1), антиапоптотических белков (например, survivin) или молекул, отвечающих за репарацию ДНК, таких как PARP1 [9]. WB является также незаменимым инструментом в исследованиях опухолевых микросред, включая взаимодействия опухолевых клеток с иммунными клетками и межклеточной жидкостью. Анализ экспрессии белков, связанных с иммуносупрессией, в частности PD-L1, CTLA-4 и белков миелоидных супрессорных клеток позволяет оценить способность опухоли избегать иммунного ответа [37].

Неврология. Важной областью применения данного метода является неврология. WB широко используется в исследованиях нейродегенеративных заболеваний, позволяя выявлять и анализировать патологические белки, в частности, белки, имеющие аномальное агрегирование и посттрансляционные модификации. При болезни Альцгеймера этот метод позволяет оценивать

уровень бета-амилоида и его различных изоформ, а также тау-белка и его фосфорилированного состояния, что важно для оценки механизмов формирования амилоидных бляшек и нейрофибрillaryных клубков – цитопатологических признаков, характерных для данного заболевания [38]. В случае болезни Паркинсона WB позволяет исследовать альфа-синуклеин, особенно его мутированные и аномально фосфорилированные формы, которые накапливаются в телах Леви – характерном маркере данного заболевания. Аналогичные исследования проводятся и в области старческой деменции [39]. Другие области исследований в неврологии включают изучение патогенеза бокового амиотрофического склероза, где WB позволяет анализировать экспрессию и модификацию белков, таких как TDP-43 и FUS, патологические отложения которых наблюдаются в двигательных нейронах данных пациентов [40]. Кроме того, WB используется для изучения белков, связанных с нейровоспалительными процессами, таких, как провоспалительные цитокины (например, IL-6, TNF- α) и маркеры активации микроглии (например, Iba1), которые также участвуют в патогенезе нейродегенеративных заболеваний [41]. Методом WB также оценивают экспрессию белка дистрофина в образцах мышечной ткани у пациентов с мышечной дистрофией Дюшена [42].

Варианты применения WB в других областях клинической медицины

Вышеописанные примеры не исчерпывают все области применения WB в клинике: он также применяется в диагностике аутоиммунных заболеваний. В случаях синдрома Гийена-Барре или миастении гравис данный метод позволяет выявлять аутоантитела, направленные против специфических нейромышечных белков [43]. WB также используется для обнаружения антител к ядерным антигенам (ANA), например, при диагностике системной красной волчанки [44]. WB также широко применяется в эндокринологии, особенно при изучении белковых гормонов и их рецепторов. Этот метод позволяет точно анализировать уровни гормонов, их изоформ и степень активации рецепторов в различных тканях. Благодаря этому можно выявлять различные эндокринные нарушения. WB также имеет решающее значение при изучении механизмов действия гормонов и их взаимодействия с другими белками, что способствует более детальному пониманию процессов в эндокринных сигнальных путях [45, 46]. В кардиологии WB играет важную роль в анализе белков, ассоциированных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и синдромами, такими как сердечная недостаточность, атеросклероз и гипертония. Он позволяет исследовать маркеры окислительного стресса, белки, связанные с воспалительными процессами, и те, которые участвуют в ремоделировании миокарда. Этот метод может использоваться для мониторинга изменений экспрессии миокардиальных белков, а также для оценки эффективности новых терапевтических подходов [47, 48].

Одно из распространенных применений WB в клинических исследованиях – выявление патогенов и оценка влияния на них лечения. Наиболее часто упоминается ВИЧ-инфекция, поскольку метод WB на протяжении многих лет использовался в качестве подтверждающего теста у пациентов с положительным результатом ELISA на антитела к ВИЧ [28]. Аналогично,

WB применяется при диагностике болезни Лайма, где он позволяет выявлять антитела, направленные против специфических белков *Borrelia burgdorferi* [49]. Следует отметить, что фундаментальных ограничений в отношении выбора патогенных белков для исследования данным методом нет. WB позволяет обнаруживать, например, липополисахарид *Burkholderia mallei* в биологическом материале, что обеспечивает прямую диагностику бактериальной инфекции [50], и многое другое.

Перспективы развития вестерн-блоттинга

Несмотря на то, что WB остается одним из классических методов анализа белков, он продолжает развиваться, адаптируясь к технологическому прогрессу и растущим требованиям к исследованиям и диагностике [23]. До настоящего времени развитие WB было сосредоточено на повышении его точности и автоматизации, включая устранение ошибок, вызванных неэффективным удалением антител и неправильной интерпретацией сигнала. Ожидается, что в ближайшие годы развитие этого метода будет направлено на автоматизацию, повышение чувствительности и интеграцию с другими аналитическими методами. Микрофлюидные системы (μ WB) и капиллярные варианты WB позволяют проводить более быстрый и точный анализ с меньшими объемами образца, что может значительно повысить эффективность исследований [23]. Таким образом, одним из перспективных направлений в инструментальной клинической лабораторной диагностике может стать дальнейшая интеграция WB с высокоразрешающими методами визуализации, что позволит осуществлять точное обнаружение белков и, среди прочего, картирование модификаций белков в реальном времени. Одновременно с этим развитие алгоритмов искусственного интеллекта для анализа изображений вестерн-блотов позволит получать более объективные и воспроизводимые результаты, устранив ошибки, связанные с ручной интерпретацией данных [15, 23, 51]. Высокопропускные методы, описываемые как разновидности WB, такие как белковые микрочипы и параллельно развивающаяся масс-спектрометрия, не столько приведут к отказу от WB как универсального метода, сколько откроют новые возможности в исследованиях с использованием интегрированных методов, включая глубоко модифицированный WB [15]. WB также будет интегрирован с высокопропускными технологиями, такими как масс-спектрометрия или белковые микрочипы, что увеличит его применение в исследованиях биомаркеров заболеваний. Также ожидается внедрение более экологичных решений, таких как многоразовые мембранны или альтернативы традиционным антителам. Благодаря этим инновациям WB сохранит статус ключевого метода анализа белков в биологических и медицинских исследованиях [23].

Если рассматривать перспективы применения и совершенствования существующих методов клинической лабораторной и молекулярной диагностики более широко, то, по всей видимости, наиболее перспективными методами исследования могут стать *in situ* методы, позволяющие одновременно выявлять множество белков непосредственно в клетках и другом биологическом материале. Можно предположить, что в ближайшие десятилетия эти методы смогут значительно улучшить и дополнить инструментарий патологоанатомов и ци-

тологов, а в некоторых случаях даже сократить необходимость их участия. Например, такие методы могут позволить поставить диагноз на основе крайне ограниченного количества материала, включая даже одну обнаруженную клетку, что можно рассматривать как будущее онкологической диагностики.



ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Towbin H., Staehelin T., Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1979; 76(9):4350-4. DOI: 10.1073/pnas.76.9.4350.
2. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259):680-5. DOI: 10.1038/227680a0.
3. Switzer R.C. 3rd, Merril C.R., Shifrin S. A highly sensitive silver stain for detecting proteins and peptides in polyacrylamide gels. *Anal. Biochem.* 1979; 98(1):231-7. DOI: 10.1016/0003-2697(79)90732-2.
4. Southern E.M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J. Mol. Biol.* 1975; 98(3):503-17. DOI: 10.1016/s0022-2836(75)80083-0.
5. Alwine J.C., Kemp D.J., Stark G.R. Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1977; 74: 5350-4, DOI: 10.1073/pnas.74.12.5350.
6. O'Farrell P.H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* 1975; 250(10):4007-21.
7. Moritz C.P. 40 years Western blotting: A scientific birthday toast. *J. Proteomics.* 2020; 212:103575. DOI: 10.1016/j.jprot.2019.103575.
8. Sule R., Rivera G., Gomes A.V. Western blotting (immunoblotting): history, theory, uses, protocol and problems. *Biotechniques.* 2023; 75(3):99-114. DOI: 10.2144/btn-2022-0034.
9. Krisnawati D.I., Liu Y.C., Lee Y.T., Wang Y.T., Chen C.L., Tseng P.C. et al. Functional neutralization of anti-IFN- γ autoantibody in patients with nontuberculous mycobacteria infection. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):5682. DOI: 10.1038/s41598-019-41952-1.
10. Tsuji Y. Transmembrane protein western blotting: Impact of sample preparation on detection of SLC11A2 (DMT1) and SLC40A1 (ferroportin). *PLoS One.* 2020 Jul 9; 15(7):e0235563. DOI: 10.1371/journal.pone.0235563.
11. Xu D., Mane S., Susic Z. Characterization of a biopharmaceutical protein and evaluation of its purification process using automated capillary Western blot. *Electrophoresis.* 2015; 36(2):363-70. DOI: 10.1002/elps.201400380.
12. Hagyousif A., Voon Y., Hiroki C. Development of a novel protein multi-blotting device. *J. Biomed. Sci. Eng.* 2010; 03(12):1125-32. DOI: 10.4236/jbise.2010.312146.
13. Degasperi A., Birtwistle M.R., Volinsky N., Rauch J., Kolch W., Kholodenko B.N. et al. Evaluating strategies to normalise biological replicates of Western blot data. *PLoS One.* 2014 Jan 27; 9(1):e87293. DOI: 10.1371/journal.pone.0087293.
14. Pillai-Kastoori L., Schutz-Geschwender A.R., Harford J.A. A systematic approach to quantitative Western blot analysis. *Anal. Biochem.* 2020; 593:113608. DOI: 10.1016/j.ab.2020.113608.
15. DeNies M.S., Liu A.P., Schnell S. Seeing beyond the blot: A critical look at assumptions and raw data interpretation in Western blotting. *Biomol. Concepts.* 2024; 15(1):10.1515/bmc-2022-0047. DOI: 10.1515/bmc-2022-0047.
16. Liu P., Na N., Liu T., Huang L., He D., Hua W. et al. Ultrasensitive detection of ferritin in human serum by Western blotting based on quantum dots-labeled avidin-biotin system. *Proteomics.* 2011; 11(17):3510-7. DOI: 10.1002/pmic.201000742.
17. Wang Y., Li Z., Yu H. Aptamer-based Western blot for selective Protein recognition. *Front. Chem.* 2020; 8:570528. DOI: 10.3389/fchem.2020.570528.
18. Xu L., Xie H., Wang B., Zhu Z., JiangH., Duang X. et al. Multiplex protein profiling by low-signal-loss single-cell Western blotting with fluorescent-quenching aptamers. *Anal. Chem.* 2023; 95(30):11399-409. DOI: 10.1021/acs.analchem.3c01577.
19. Chen W., Xu D., Liu L., Peng C., Zhu Y., Ma W. et al. Ultrasensitive detection of trace protein by Western blot based on POLY-quantum dot probes. *Anal. Chem.* 2009; 81(21):9194-8. DOI: 10.1021/ac901429a.
20. Hughes A.J., Herr A.E. Microfluidic Western blotting. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2012; 109(52):21450-5. DOI: 10.1073/pnas.1207754110.
21. Pan W., Chen W., Jiang X. Microfluidic Western blot. *Anal. Chem.* 2010; 82(10):3974-6. DOI: 10.1021/ac1000493.
22. Snowden B.W., Halliburton I.W. Identification of cross-reacting glycoproteins of four herpesviruses by Western blotting. *J. Gen. Virol.* 1985; 66 (Pt 9):2039-44. DOI: 10.1099/0022-1317-66-9-2039.
23. Begum H., Murugesan P., Tangutur A.D. Western blotting: a powerful staple in scientific and biomedical research. *Biotechniques.* 2022; 73(1):58-69. DOI: 10.2144/btn-2022-0003.
24. Horinouchi T., Terada K., Higashi T., Miwa S. Using phos-tag in Western blotting analysis to evaluate protein phosphorylation. *Methods Mol. Biol.* 2016; 1397:267-77. DOI: 10.1007/978-1-4939-3353-2_18.
25. Rigby L., Muscat A., Ashley D., Algar E. Methods for the analysis of histone H3 and H4 acetylation in blood. *Epigenetics.* 2012; 7(8):875-82. DOI: 10.4161/epi.2098.
26. Weekes J., Morrison K., Mullen A., Wait R., Barton P., Dunn M.J. Hyperubiquitination of proteins in dilated cardiomyopathy. *Proteomics.* 2003; 3(2):208-16. DOI: 10.1002/pmic.200390029.
27. Peng Z., Li X.J., Pang C., Zhang J.T., Zhu Q., Sun J.Q. et al. Hydrogen inhalation therapy regulates lactic acid metabolism following subarachnoid hemorrhage through the HIF-1 α pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2023 Jun 30; 663:192-201. DOI: 10.1016/j.bbrc.2023.04.072.
28. Meftahi G.H., Bahari Z., Zarei Mahmoudabadi A., Iman M., Jangravi Z. Applications of Western blot technique: From bench to bedside. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* 2021; 49(4):509-17. DOI: 10.1002/bmb.21516.
29. Owen C., Fader K.A., Hassanein M. Western blotting: evolution of an old analytical method to a new quantitative tool for biomarker measurements. *Bioanalysis.* 2024; 16(5):319-28. DOI: 10.4155/bio-2023-0212.
30. Garczyk S., von Stillfried S., Antonopoulos W., Hartmann A., Schrauder M.G., Fasching P.A. et al. AGR3 in breast cancer: prognostic impact and suitable serum-based biomarker for early cancer detection. *PLoS One.* 2015 Apr 15; 10(4):e0122106. DOI: 10.1371/journal.pone.0122106.
31. Guo Z., Li Y., Li W., Li H., Wu Z. Exosome-mediated lncRNA LINC01140 attenuates breast cancer progression by regulating the Wnt/ β -Catenin Pathway. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2023; 33(7):31-42. DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2023048344.
32. Ali A., Kulik G. Signaling pathways that control apoptosis in prostate cancer. *Cancers (Basel).* 2021 Feb 24; 13(5):937. DOI: 10.3390/cancers13050937.
33. Tong G., Cheng B., Wu X., He L., Lv G., Wang S. circHIPK2 has a potentially important clinical significance in colorectal cancer progression via HSP90 ubiquitination by miR485-5p. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 2022; 32(8):33-42. DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2022042925.
34. Kusuma V.I., Itishom R., Qurnianingsih E., Rejeki P.S. A Systematic review of the effect of ketogenic diet on Bcl-2 (B-cell lymphoma-2) expression as an apoptosis marker in cancer treatment. *Biomol. Health Sci. J.* 2021; 4(2): 125-30. DOI: 10.20473/bhsj.v4i2.30173.
35. Jiménez C., Garrote-de-Barros A., López-Portugués C., Hernández-Sánchez M., Díez P. Characterization of human B cell hematological malignancies using protein-based approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2024; 25(9):4644. DOI: 10.3390/ijms25094644.
36. Monfaredan A., Rahim F., Tavoosidana G., Modarressi M.H., Hosseiniinasab A., Aghajani-Afrouzi A.A. et al. Imatinib loaded body fluids derived exosomes using microfluidics system: an *in vitro* analysis. *Sys. Rev. Pharm.* 2024; 15(3): 110-9. DOI: 10.31858/0975-8453.15.3.110-119.
37. Abdulkhaleq F., Larossi N., Ogbonda O., Abu Eid R., Ward F. CTLA-4 expression by human tumor cells and its impact on immunotherapeutic strategies: a systematic review. *Immuno-Oncology Insights.* 2024; 2(3):151-69. DOI: 10.18609/doi.2021.024.
38. Sadeghzadeh J., Shahabi P., Farhoudi M., Ebrahimi-Kalan A., Mobed

РЕКЛАМА

ЭКОФИТОЛ ДЕТОКС ПЛЮС

ЭКСТРАКТ
АРТИШОКА 100 МЛ

Стимулирует образование
и выведение желчи

Только натуральные
компоненты

Защищает клетки печени
от негативных факторов



БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА.
НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ

A., Shahpasand K. et al. Tau protein biosensors in the diagnosis of neurodegenerative diseases. *Adv. Pharm. Bull.* 2023; 13(3):502-11. DOI: 10.34172/apb.2023.061.

39. Estaun-Panzano J., Arotcarena M.L., Bezard E. Monitoring α-synuclein aggregation. *Neurobiol. Dis.* 2023; 176:105966. DOI: 10.1016/j.nbd.2022.105966.
40. Worrall D., Ayoubi R., Fotouhi M., Southern K., McPherson P.S., Laflamme C. et al. The identification of high-performing antibodies for TDP-43 for use in Western blot, immunoprecipitation and immunofluorescence. *F1000Res.* 2023 Jun 20; 12:277. DOI: 10.12688/f1000research.131852.2.
41. Gong P., Jia H.Y., Li R., Ma Z., Si M., Qian C. et al. Downregulation of Nogo-B ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury in mice through regulating microglia polarization via TLR4/NF-κappaB pathway. *Neurochem. Int.* 2023 Jul; 167:105553. DOI: 10.1016/j.neuint.2023.105553.
42. Maruyama R., Yokota T. Antisense oligonucleotide treatment in a humanized mouse model of Duchenne muscular dystrophy and highly sensitive detection of dystrophin using Western blotting. *Methods Mol. Biol.* 2021; 2224:203-14. DOI: 10.1007/978-1-0716-1008-4_15.
43. Sawai S., Mori M., Kuwabara S. Methodology for identification of new target molecules in neuroimmunological disorders. *Clin. Exper. Neuroimmunol.* 2021; 12(3): 202-7. DOI: 10.1111/cen3.12645.
44. Kumar N.N., Ahmad Dit. Al Hakim S., Grygiel-Górniak B. Antinuclear antibodies in non-rheumatic diseases. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 2025; 73(1): 10.2478/aitc-2025-0004. DOI: 10.2478/aitc-2025-0004.
45. Banerjee A., Goel A., Shah A., Srivastava S. Recent advances in proteomics and its implications in pituitary endocrine disorders. *Biochim. Biophys. Acta Proteins Proteom.* 2021; 1869(11):140700. DOI: 10.1016/j.bbapap.2021.140700.
46. Kim K., Kwon J.S., Ahn C., Jeung E.B. Endocrine-Disrupting Chemicals and Their Adverse Effects on the Endoplasmic Reticulum. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(3):1581. Published 2022 Jan 29. DOI: 10.3390/ijms23031581.
47. Hassanabad A.F., Deniset J.F., Fedak P.W.M. Pericardial inflammatory mediators that can drive postoperative atrial fibrillation in cardiac surgery patients. *Can. J. Cardiol.* 2023; 39(8):1090-1102. DOI: 10.1016/j.cjca.2023.06.003.
48. Kawase Y., Shimizu K., Funamoto M., Sunagawa Y., Katanasaka Y., Miyazaki Y. et al. Young investigator award: compound A, a Ginger extract, significantly reduces pressure overload-induced systolic heart failure in mice. *Eur. Cardiol.* 2021; 16:e5. DOI: 10.15420/ecr.2021.16.PO1.
49. Dong Y., Zhou G., Cao W., Xu X., Zhang Y., Ji Z. et al. Global seroprevalence and sociodemographic characteristics of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in human populations: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Glob. Health.* 2022; 7(6):e007744. DOI: 10.1136/bmjgh-2021-007744.
50. Elschner M.C., Scholz H.C., Melzer F., Saqib M., Marten P., Rassbach A. et al. Use of a Western blot technique for the serodiagnosis of glanders. *BMC Vet. Res.* 2011 Jan 19; 7:4. DOI: 10.1186/1746-6148-7-4.
51. Bass J.J., Wilkinson D.J., Rankin D., Phillips B.E., Szewczyk N.J., Smith K. et al. An overview of technical considerations for Western blotting applications to physiological research. *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 2017; 27(1):4-25. DOI: 10.1111/sms.12702.

РЕКЛАМА

ВИТАМИН С ДЕТСКИЙ

С 1,5 ЛЕТ ЭКОЛАБ

Покупайте
на маркетплейсах