



sartorius

找不到好用的濃縮管

做Filter-Aided Sample Preparation (FASP)嗎？

讓**岑祥**與**Sartorius**來幫助您！

撰文：馮芝昕

近年來在生醫領域相當熱門的話題就是精準醫療(Precision Medicine)，也是全球生醫界積極投入的方向之一，究竟什麼是精準醫療呢？現今醫療方式主要以臨床症狀加上常規檢查，如抽血、x光檢查、超音波等等，再透過醫生的經驗來判斷疾病種類，之後相同疾病則採用相同治療方法與藥品為準則治療；精準醫療則是除了透過傳統方式外，會再加上生物醫學檢測，如基因檢測、蛋白質檢測、代謝檢測等，從中找出最適合病患的治療方法與藥品。精準醫療不同於傳統的醫療方式，基因與疾病之間的聯繫、如何通過基因狀況來提供不同的用藥指導，都需要依靠醫生的精準診斷，如此，相對應的臨床診斷技術成為精準醫療發展的推助劑。

現今，基因檢測技術、蛋白質體學檢測、螢光、紫外光、光學成像等檢測技術在精準醫療領域均發揮著極其重要的作用。其中的蛋白質體學檢測需與質譜儀(Mass Spectrometry, MS)技術相輔相成，對蛋白質進行快速且靈敏的身分鑑定(Protein Identification)。質譜蛋白質分析原理來自約翰芬恩及田中耕一兩位科學家所發明的新離子化法。在此之前的離子化方法皆不能有效的產生帶電荷蛋白質。

蛋白質是基因轉譯後的產物，為生命科學中最重要的分子。基因固然是一切現象的源頭，但是基因是靜態的，而蛋白質卻是動態的。它反應了基因在某一特定時空下的表現，例如蝴蝶與幼蟲含有相同的基因，外觀卻差異甚大。當細胞產生變化，例如由正常細胞轉變成癌細胞時，某些蛋白質濃度或種類會和正常細胞不同。科學家希望藉由比較正常與疾病狀態下之細胞而找到和疾病相關的蛋白質(Biomarker)，以利疾病(例如癌症)的早期診斷與監測。可是細胞中所含有的蛋白質種類多達上千種，而且濃度差異超過百萬倍。要在這麼多不同蛋白質且濃度差異甚大的樣品中找到與癌症相關的蛋白質，是一種複雜且困難的工作。質譜儀因其高靈敏度、分析速度、分析複雜樣品的解析能力而成為此一領域最重要的技術，因此許多人認為沒有質譜儀即沒有蛋白質體學。

一般可利用質譜儀檢測常人與病人之間的蛋白質是否有差異，依照檢測方式區分可分為兩種，第一種樣品需要先跑二維電泳(Two-Dimensional Electrophoresis, 2-DE)來確定差異蛋白質在哪裡後，挖膠先進行水解再上質譜儀分析，稱為膠體內水解(In-gel Digestion)，此分析之樣品一般只有一種蛋白質，然而膠體水解的凝膠可能會阻礙肽的回收，進而造成質譜儀分析的困難。

第二種則無須先跑二維電泳，而是直接擷取一定範圍的蛋白質後，利用溶液相水解方法(In-solution Digestion)水解蛋白質並使用Ziptip純化後，再上質譜儀分析，此種分析的樣品含有多種蛋白質。由於二維電泳的實驗步驟較難進行，因此現在大多使用第二種分析方式來進行蛋白質結構分析。此種方式在處理樣品時多利用Strong Chaotropic Reagent(如尿素)，在蛋白質變性狀況下提取蛋白質，容易造成蛋白質溶解不完全，在水解成肽時造成干擾。

Jacek團隊於2009年時研發出Filter-Aided Sample Preparation (FASP)，此法讓研究者可以更快的進行蛋白質樣品前處理。FASP是一種多功能且高效處理蛋白質之方法，主要是利用濾膜篩選原理先將蛋白質分離，再將分離好的蛋白質利用溶液相水解方式做水解，為避免蛋白質溶解不完全，會在濾膜中做水解，讓被濾膜攔截的蛋白質能完全被水解，最後再利用濾膜進行液體交換，如此既可避免膠體水解的凝膠可能會阻礙肽的回收，又可以去除蛋白水解過程而產生的雜質。現今，FASP已成為常用的蛋白質處理方式，而為了加快樣品處理的速度，多使用核酸/蛋白質濃縮管作為FASP的工具。隨著越來越多樣的樣品，亦出現許多修改版的FASP。

而以濾膜工藝起家的德國大廠Sartorius，則開發出一系列的超濾商品，供實驗室應用於FASP；例如明星商品Vivaspin與Vivacon蛋白濃縮管系列(圖一及圖二)，則可依據實驗對分子量大小、以及體積的不同需求，而選擇適合的分子篩選條件與尺寸。已有多篇文獻指名上MS之前，樣品處理必選用Sartorius Vivaspin/Vivacon進行樣品前處理。常見的使用方式為：

1. 選用低MWCO (如：2 kDa或10 kDa之商品)的Vivaspin/Vivacon以去除小分子(如Hormone, Metabolites或Peptides)。
2. 同時選用低和高MWCO的Vivaspin/Vivacon以留下感興趣的蛋白範圍，例如2 kDa以及150 kDa MWCO商品。



▲ 圖一、符合不同樣品體積之蛋白濃縮管，樣品體積0.5-20毫升皆可處理，大於20毫升之樣品請洽岑祥當區業務。

除此之外，Vivacon與Vivaspin最大的差異在於，Vivacon為水平膜結構更能將直鏈的DNA或Peptide截流，並設計為可反轉離心。不僅較適合以Peptide為主的蛋白樣品之外，也很適合核酸的濃縮或是去除干擾後續核酸分析的小分子；對於珍貴樣品，也因其可反轉離心特性，而能達到100%樣品回收的效率。配合Sartorius專利膜—Hydrosart的低非特異性分子吸附力，樣品回收量更高！另有環氧乙烷(EO)滅菌處理的PCR-grade可供選擇，更能確保實驗穩定性。更多產品資訊，請洽岑祥業務部。



▲ 圖二、處理不同樣品大小之核酸濃縮管。



sartorius

相關產品：

Sartorius Vivacon 核酸/蛋白質濃縮管*

	Vivacon 500	Vivacon 500-PCR Grade	Vivacon 2	Vivacon 2-PCR Grade
載流分子量 \ 樣品體積	500 uL	500 uL	2 mL	2 mL
2,000 MWCO	VN01H91	X	X	VN02H91
10,000 MWCO	VN01H01	X	X	VN02H01
30,000 MWCO	VN01H21	VN01H21ETO	VN02H21ETO	VN02H21
50,000 MWCO	VN01H31	VN01H31ETO	VN02H31ETO	VN02H31
100,000 MWCO	VN01H41	VN01H41ETO	VN02H41ETO	VN02H41
125,000 MWCO	VN01H81	VN01H81ETO	VN02H81ETO	VN02H81

*Vivacon核酸/蛋白質濃縮管之蛋白質及核酸截流分子對照表：

Conversion Table for Hydrosart® MWCO to Nucleotide Cutoff

Membrane	MWCO	Double-Stranded Nucleotide Cutoff(bp)
Hydrosart®	2 kDa	>10
Hydrosart®	10 kDa	>30
Hydrosart®	30 kDa	>50
Hydrosart®	50 kDa	>300
Hydrosart®	100 kDa	>600
Cellulose Acetate	125 kDa	>650

Sartorius Vivaspin蛋白質濃縮管：

	Vivaspin 500	Vivaspin 2	Vivaspin Turbo 4	Vivaspin 6	Vivaspin 15R	Vivaspin Turbo 15	Vivaspin 20
截流分子量 / 樣品體積	100-500 uL	0.4-2 mL	2-4 mL	2-6 mL	4-15 mL	4-15 mL	5-20 mL
3,000MWCO	VS0192	VS0292	VS04T92	VS0692	VS15RH92	VS15T92	VS2092
5,000MWCO	VS0112	VS0212	VS04T12	VS0612	VS15RH12	VS15T12	VS2012
10,000MWCO	VS0102	VS0202	VS04T02	VS0602	VS15TRH02	VS15T02	VS2002
30,000MWCO	VS0122	VS0222	VS04T22	VS0622	VS15RH22	VS15T22	VS2022
50,000MWCO	VS0132	VS0232	VS04T32	VS0632		VS15T32	VS2032
100,000MWCO	VS0142	VS0242	VS04T42	VS0642		VS15T42	VS2042
300,000MWCO	VS0152	VS0252		VS0652			VS2052

註：以上貨號除Vivaspin 15R為Hydrosart膜，其餘皆為PES膜；另Vivaspin 2有CTA及Hydrosart膜產品

質譜儀樣品前處理相關產品：

應用	商品	規格	貨號
Albumin Removal	AlbuminOUT	25 preps 50 preps	786 - 251 786 - 252
Proteomic Grade Water	Proteomic Grade Water	1L	786 - 229
Silver Stain	FOCUS FASTsilver kit	5 mini Gels 25 mini Gels	786 - 240T 786 - 240
Trypsin for Mass Spectrometry	Trypsin, MS Grade	5 x 20 ug 100 ug 200 ug	786 - 245 786 - 687 786 - 688
	Trypsin, MS Grade (Bovine)	5 x 20 ug	786 - 245B
In-Gel Digestion of Coomassie & Fluorescent Stained proteins	InGel™ Blue	100 preps	786 - 681

參考文獻：

1. Wiśniewski JR, Zougman A, Nagaraj N, Mann M. Universal sample preparation method for proteome analysis (2009). Nat Methods. 6(5):359-62.
2. Jacek R. Wiśniewski, Dorota F. Zielinska and Matthias Mann (2010). Anal Biochem Dec 14, 2010
3. Ivan Matic, Ellis G. Jaffray, Senga K. Oxenham, Michael J. Groves, Christopher Barratt, Sudhir Tauro, Nicola R. Stanley-Wall, and Ron Hay J. Proteome Res., Just Accepted Manuscript