

## Ettan™ MDLC 多維液相層析系統

Ettan™ MDLC 多維液相層析系統是 GE Healthcare 研究發展 LC 系統系列內最新的進展，提供了在複雜樣品混合物中蛋白質 pre-fractionation 和 nano scale 多為分離的雙重功能。MDLC 可根據樣品複雜性和客戶要求在專門配置下進行。Ettan™ MDLC 系統依照 AKTA™ 性能而設計並提供卓越的靈敏度和廣泛的線性度，進而能偵測到低密度蛋白的複雜混合物的分析。系統設計為和電灑式質譜儀連接，使得能夠通過 MDLC-MS/MS 進行快速蛋白質鑑定。

### 前言

作為蛋白分離的傳統二維蛋白質電泳方式的補充，多維液相層析系統(MDLC)與串聯式直譜儀(MS/MS)的結合正在迅速廣泛地接受。MDLC 是為一種蛋白質分離方法之工具，並非取代 2D 電泳，而是提供傳統電泳不能給予的訊息補充，作為識別和鑑定一些通常難以使用其他方法分離的蛋白質例如，低密度蛋白、疏水膜蛋白、分子量極小和極大蛋白以及極酸和極鹼蛋白等的一種分離工具，透過蛋白質水解酶每水解後通過離子交換管柱(IEX)和反向層析管柱(RPC)得到分離，並快速得到樣品鑑定。



## 產品介紹

- 靈活的系統裝置，具有寬廣的線性度。既可以提供微量制備級的蛋白質初分離，又可以進行 nano scale 的 LC-MS。
- 專利 nano-閥門設計提供極低的 dead volume，提高分辨率。
- 自動進樣器 A-905 提高系統通量，同時 peltier 冷卻使在整個上樣過程中樣品解離最小化。上樣量能夠低至 100 nl 而無任何樣品損失。
- Ettan™ MDLC 配備有及時監測系統用於測定流量、壓力、導電度和 UV。
- 獨特 P-905 pump 能提高高壓梯度的準確性，穩定流速，降低在 nano-LC 中常見壓力波動和 baseline noise。
- 配備獨特導電度測定儀，能提供及時梯度監測和脫鹽過程效率的測定
- 具有預設編輯程式專門化設置。
- Ettan™ MDLC 的所有組成均用生物惰性系統物質以及生物相容性材料制備，無論應用於何種層析技術，均可耐受腐蝕性緩衝液，確保高回收率和易於清洗。
- 整各系統由 UNICORN™ 軟體控制。



系統可以在基座上旋轉，  
易於使用調整 pump 和閥門。

## 三個系統設置

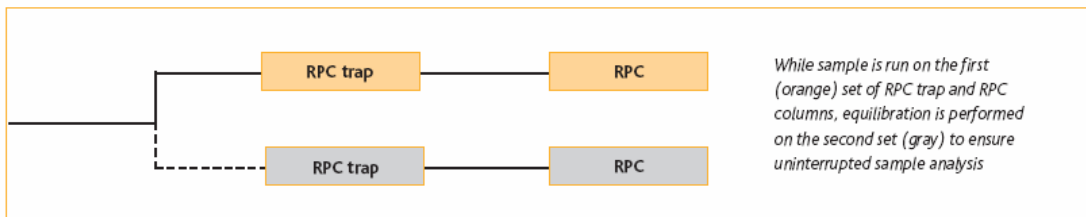
預設編制方法內設三個不同的系統裝置，每一個都是為了滿足 LC-MS 的特別需要：

**High-throughput:** 用於高效工作循環的平行 RPC 裝置。

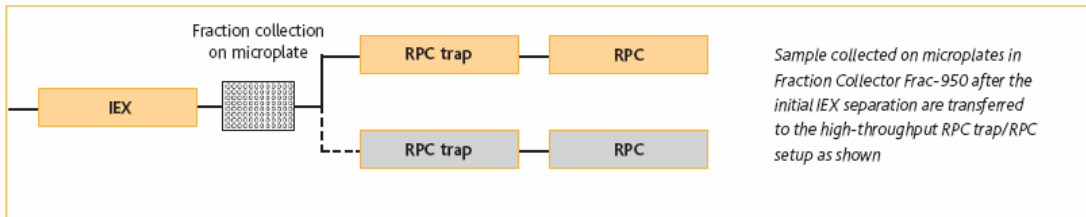
**Off-line:** 用於提高鑑定速率和序列覆蓋率的 IEX/RPC 裝置。

**Online salt plug injection:** 用於自動化和便利的 online 鹽梯度上樣的 IEX/RPC 裝置。

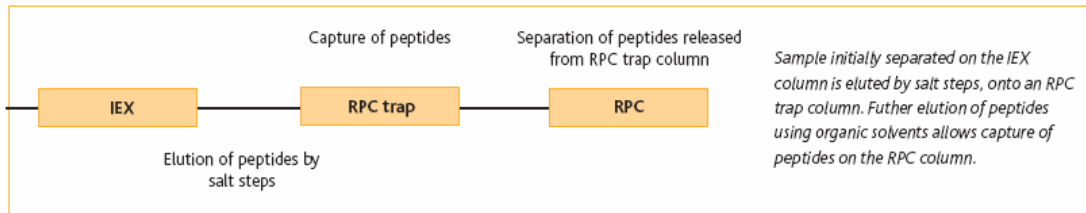
### High-throughput configuration



### Off-line configuration



### Online salt-plug injection configuration



## GE Healthcare Bio-Sciences

香港商安瑪西亞股份有限公司 台灣分公司

台北電話：02 2888 3570

台中電話：04 2355 2142

台北傳真：02 2888 3580

台南電話：06 312 1331

免付費電話：0800 291 038

高雄電話：07 558 4279

網址：[www.amershambiosciences.com.tw](http://www.amershambiosciences.com.tw)



GE imagination at work

## GE Helathcare

# MDLC 的功能與特點說明

### 1. 為何使用 **Liquid Chromatography (LC) Base** 的方式作為 **Proteomic** 研究的工具

- 與原先使用 2D Electrophoresis, Gel Base 的方式互補, 利用多種不同於 2D 原理的 LC 技術來分離蛋白質或 peptides, 例如帶電量, 親和性, 厭水性等
- 對於複雜性高, 含量低, 初期高量的樣品, 靈敏度與 Throughput 被需求的狀況, LC Base 能提供較大的幫助

### 2. 用於 **LC Base** 的技術特點說明

- 最常被使用的技術為 **Ion Exchange** (離子交換)
  - 有速度快, capacity 大, resolution 高的優點, 此種技術的 column 有不同等級, 分別可處理如 cell lyse 較 crude 的 sample 與高解析度 protein 或 peptide 的分離
- **Affinity Chromatography** 常被用於 Sample Enrichment,
  - 例如要研究 Plasma 中的 Biomarker, 通常在 Plasma 中的含量較低, 不亦被分離與觀察的原因在於被 Albumin, IgG 等高含量的 Protein 遮蔽, 故可利用特定 Affinity Column (例如 Blue, Protein A 等) 先處理 Plasma, 將 Albumin 與 IgG 去除, 相對提高 Biomarker 的含量 (Enrichment) 後, 在進行之後的分離與分析
- **RPC** 亦為常用的技術之一
  - 具有最高解析度的功能, 唯要使用有機溶劑作為分離時的 mobile phase, 有使 protein 失去活性的風險, 可多用於 peptides 的分離

### 3. Sample 特性的涵蓋性

- **Basic 與 Acid Protein**
  - 2D 技術有極佳的解析度, 但對於 Basic 與 Acid Protein, 因 pH 的

範圍限制，無法進入分離膠條 (strip) 內，導致這些 Protein 在一開始便會被捨棄 Ion Exchange 技術已分子帶電量來吸附與分離蛋白，可含括 Basic 與 Acid Proteins

- **Low Abundant Protein**

請參見前段 Affinity Chromatography 有關 Sample Enrichment 的說明，以 Plasma 中的 Biomarker 為例

#### 4. Protein 與 Peptide

- **Protein**

可以一維或二維 Column 方式分離蛋白質  
二維方式例如 Ion Exchange 配合 RPC 或 Affinity Chromatography 配合 Ion Exchange 等

- **Peptide**

為使 MS data 有較多比對 data base 的 data, 常將 protein digest 成 peptides 後, 以 LC 方式進行分離後, 再打入 MS 中作檢測可以一維或二維方式分離 peptides, 二為最常用的組合方式為 Ion Exchange 配合 RPC

#### 5. 分離之後的處理

- 以 **Fraction Collector** 進行分離後 sample 的收集

- i. 以 96 孔盤進行收集, 共可放 4 個 96 孔盤
- ii. 可直接將收集之 96 孔盤, 轉至 Digester 中, 進行 digest 至 peptides 的工作
- iii. 收集方式可以一般以固定方式收集, 亦可選用 Peak Collection (單峰收集) 的方式 Peak Collection 為利用 2 peak 之間, curve 轉折的斜率來進行收集, 使 column 分離後的 peak 可分別收於不同的 well 中, 避免應收集造成以分離的 peak 再度混合(利用斜率的原因是避免無法區分沒有回到 base line 的 peak)

- 亦可直接連接於 LC-MS, 進行再進一步檢測