

蛋白質 N 端定序 Protein N-Terminal Sequencing

明欣生物科技使用 Applied Biosystems LC 494 Procise® Protein Sequencing System，依據 Edman Degradation 原理，提供高靈敏度的 N 端定序服務。蛋白質 N 端定序可應用於下列領域：未知蛋白質的鑑定、基因選殖之探針設計、免疫抗原之胜肽合成、小型蛋白質分子(如 toxins and chemokines)之完全定序、找出轉譯後修飾位點、蛋白質藥物之品管分析等。

◎ 技術平台

N 端定序儀	LC 494 Procise® Protein Sequencing System (Applied Biosystems)
電泳純化系統	SDS-PAGE: PROTEAN® II xi Cell (Bio-Rad)
PVDF 膜轉印	XCell II™ Blot Module (Invitrogen) iBlot® Dry Blotting System (Invitrogen)

◎ 服務項目與內容

服務項目	服務內容
N 端序列分析	基本分析包含一個 blank cycle，一個胺基酸標準品 cycle，及四次 Edman degradation cycles，所能定序長度視蛋白質純度及總量而定。
PVDF 膜轉印 (PVDF membrane blotting)	定序樣品除客戶自行純化之蛋白質與胜肽之外，本公司並提供 PVDF 膜轉印，以便製備高純度之樣品，降低鹽類及其他雜質之干擾。
多重蛋白質之定序	提供一維及二維(7 公分)電泳膠體純化與 PVDF 膜轉印之服務，再針對個別樣品進行序列分析。
序列比對分析	結果報告包括原始 HPLC 圖譜資料、預測的蛋白質序列與資料庫比對結果

◎ 收費標準

- 基本上機費用 4,500 元，包含 1 個 blank，1 個胺基酸標準品，4 個胺基酸定序。
- 之後每增加 1 個胺基酸，則加收 700 元。
例如：欲定出 10 個胺基酸序列，則費用為 $4500 + (10-4) \times 700 = 8,700$ 元
- 本公司另提供 7 公分的 SDS-PAGE 及 PVDF 膜轉印服務，SDS-PAGE 費用為 1,800 元，PVDF 膜轉印費用為 1,500 元。

4. 如因樣品不純或 N-terminal blocked 而未能定出樣品之序列者，則酌收基本上機費用 4,500 元。

◎ 樣品製備及遞送注意事項

1. 本公司恕不接受具放射性、劇毒性或感染性之樣品。
2. 送測樣品形式
 - 2.1 純化後之液體樣品或乾燥粉末樣品。
 - 2.2 經電泳後轉印在 PVDF 膜上的樣品。請勿使用其他非 PVDF 的轉印膜，例如硝化纖維(nitrocellulose)，以免溶解阻塞管路，造成儀器毀損。
3. 樣品蛋白質含量
為獲得較佳之定序結果，送測樣品蛋白質含量建議為 100 picomoles 以上(註：100 picomoles 約可作 6 個 Edman Degradation 反應)，若欲定較長之胺基酸序列，樣品量需相對增加，請依所需自行調整。
4. 液體樣品或乾燥粉末樣品
 - 4.1 不純的樣品會導致定序結果產生多組訊號而無法判斷，請確認樣品中只有單一蛋白質。
 - 4.2 乾燥粉末樣品必須 desalt and desolvent，且須可以回溶於 ddH₂O, acetonitrile, propanol, acetic acid, 或 formic acid。
 - 4.3 液體樣品中不能含有會干擾定序反應的成分，例如：Tris, HEPES, glycine, guanidine, glycerol, sucrose, ethanolamine, SDS, Triton X-100, Tween, ammonium sulfate, other ammonium salts。
5. PVDF 轉印膜樣品
 - 5.1 轉印後的 PVDF 膜需用 Coomassie R250 進行染色，退染後以二次水或 50% 甲醇清洗並晾乾。
 - 5.2 因樣品反應槽體積有限，僅可容納 4-5 bands 的 PVDF 轉印膜，如樣品濃度偏低，請先行濃縮。
 - 5.3 樣品轉印時，請勿使用 Tris 或含有自由胺基(如 Glycine)的緩衝液，避免干擾 N 端定序反應。
 - 5.4 轉印效率因蛋白質特性及分子量大小而有所不同。請自行調整轉印條件及起始蛋白質用量，以達送件樣品需求量。
6. 樣品遞送注意事項
 - 6.1 PVDF 膜之樣品請收集並裝於 1.5 ml 微量離心管內。
 - 6.2 樣品遞送過程中之溫度要求：粉末樣品與 PVDF 膜轉印樣品可以室溫運送，溶液樣品建議以低溫冷藏運送。若於室溫下不穩定之特殊樣品，建議以冷凍方式運送。

◎ 服務流程

1. 請先與本公司蛋白質體實驗室連絡(電話：02-26557128 分機 271)，釐清實驗目的與預期的實驗結果，以利規劃樣品處理與實驗操作，減少實驗過程中可能遭遇的問題，有效掌控實驗的完成時程。
2. 請於本公司網站下載「[服務委託單](#)」，詳細填妥後，以 E-mail 傳送至本公司蛋白質體實驗室 (proteomics@missionbio.com.tw & missiond@ms24.hinet.net)，以確認服務需求並提供報價。
3. 請參考「[樣品製備及遞送注意事項](#)」，進行取樣及相關之樣品前處理。
4. 請列印經客戶確認的「[服務委託單](#)」紙本一份連同備妥之樣品，通知本公司派員收件或快遞送達本公司(郵遞區號 11503，地址：台北市南港區園區街 3 號 10 樓之 3)。
5. 本公司於收到樣品後，先檢視樣品質量是否符合實驗需求，如有問題，將與客戶討論解決方法或重新送樣。
6. 本公司實驗室依照委託之服務項目，進行相關實驗及資料分析，過程中視需要向客戶報告執行狀況，或共同討論所遭遇的問題及解決方案。
7. 實驗及資料分析完成後，由本公司製作結果報告，並檢附相關原始資料圖檔或數據檔，交付客戶驗收後結案。客戶依約定的付款方式，結清服務費用。