

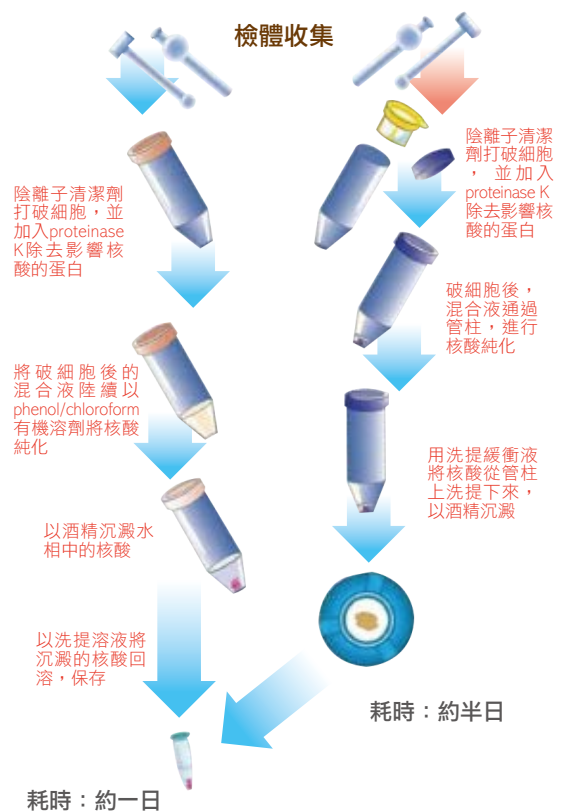
核酸萃取超進化－分子生物學的工業革命

如果說分子生物學的起點是發現核酸雙螺旋結構(double-helix)，核酸萃取(DNA extraction)技術的出現就是奠定分子生物學重要地位的基石。在了解核酸結構與掌握核酸萃取技術之後，核酸相關研究開始蓬勃發展，這是分子生物學中最早興起的研究領域，藉由這些早期的研究成果發展出一系列與核酸相關的應用技術，其中某些技術直到今天依然有著無遠弗屆的影響力，甚至超過分子生物學界線，例如製藥業使用基因轉殖後的大腸桿菌生產胰島素、生態與演化學界以大量的PCR比對個體間的單一核苷酸多型性(Single nucleotide polymorphisms, SNP)以重建族群遷移路徑及演化親源關係，乃至於刑事鑒定等都因核酸研究而受惠；其中高效率核酸萃取技術的確立與不斷改進絕對在分生技術的推廣過程中扮演重要角色。

早期核酸萃取或稱純化是一項勞力密集的繁瑣工作，常見的純化方式有兩種；有機溶劑萃取純化法(圖一左)及非有機溶劑萃取純化法。有機溶劑萃取純化法主要利用酚(Phenol)及氯仿(Chloroform)將細胞溶解(lysis)，經過超高速離心使溶液分層，此時DNA會存在水相層與其他諸如蛋白質等雜質分開，將DNA抽出，以酒精(ethanol)或異丙醇(isopropanol)清洗沉澱(即酒精沉澱法)，最後以緩衝液回溶。此過程需要使用大量有機溶劑，而酚及氯仿都具有高揮發性，易造成操作者健康上的疑慮。

非有機溶劑萃取純化法的化學原理則與現代實驗室常用管柱法(column method)(圖一右)較為相近。先以陰離子界面活性劑(detergent)將細胞打破，並使蛋白質變性，以抑制DNase的活性，並加入蛋白酶(Proteinase K)讓DNA上的蛋白質解離，使DNA易於析出。接著加入鹽類使DNA上的負電被中和(鹽析，salting out)，進而凝集沉澱形成白色絲狀物。收集析出的DNA同樣以酒精沉澱法除水分及鹽類，最後回溶於緩衝溶液中保存。此法的缺點在於鹽析後的DNA不易收集完全，使回收率打折扣。

為改善非有機溶劑萃取純化法的產物回收率，近年來開發出管柱法，將鹽析後的DNA溶液通過具有能捕捉DNA細絲的薄膜的管柱，DNA便能有效率得從溶液中分離出來，大幅提升產物回收率，而當DNA黏覆薄膜上時還能反覆進行多次清洗，最大限度的減少鹽類殘留，同時還能搭配抽氣幫浦或高速離心機加快整體流程。此方法已被廣泛應用在全球分生實驗室，由於大量生產且競爭廠商眾多，其套組售價越來越低廉，使得管柱法成為許多實驗室進行核酸萃取時的不二選擇；然而即使在管柱、離心機的幫助下加快了實驗流程，此方法依然有著繁鎖的操作步驟，且一名操作人員同時能處理的數量有限，當有大量的樣本需要進行核酸萃取時對於操作人員的精神與體力是一大負擔，隨著時間的延長，人為誤差的影響會逐漸放大，產物品質也變得難以兼顧。

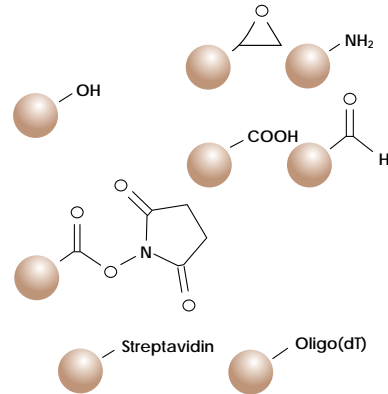


圖一、有機溶劑萃取純化法(左)與管柱法(右)



圖二、磁珠萃取法，由左至右分別為步驟(1)~(5)，(1)以 lysis buffer 打破細胞，使核酸懸浮於溶液中。(2)加入磁珠並配合 binding buffer 使核酸吸附於磁珠上。(3)以磁鐵集中磁珠，加入 wash buffer 洗去非專一結合物，反覆數次。(4)加入 Elution buffer 使核酸自磁珠上釋放。(5)分離核酸與磁珠，即可獲得核酸產物。

為解決此一長久存在問題，提升台灣生醫研究產能，岑祥獨家引進 PerkinElmer Chemagen 全自動核酸萃取系統，採用磁珠萃取法(圖二)，將DNA結合介質由薄膜改換為微米等級磁珠，有效增加表面積，易於吸附與沖提，提高產物回收率，並使吸附、清洗、提取等過程達成全自動化，節省人力。獨家專利的M-PVA磁珠(圖三)能有效吸附核酸，同時防止多數蛋白質非專一性結合，另外可客製化磁珠表面修飾，應用於蛋白質、細胞分離等實驗。與市面上多數自動萃取系統不同，Chemagen採用電磁鐵式磁棒(圖四)，比一般固定式磁棒能更流暢的收集與釋放磁珠；獨特磁棒自轉混和設計，使磁珠與溶液混和更完全，提高核酸提取全過程效率，相較於活塞式混和更能維持核酸片段的完整性，有效減少斷裂，提升產物品質。



圖三、專利技術M-PVA磁珠，能有效吸附核酸，減少非專一性結合。PerkinElmer Chemagen同時提供多官能基的表面修飾磁珠，以符合不同實驗需求。



圖四、(左)電磁鐵棒通電，使其產生磁性，此時磁珠與核酸被吸附於其上。(右)電磁鐵棒斷電，失去磁性，磁珠分離，此時馬達啟動使電磁鐵棒旋轉，溶液均勻混和。

PerkinElmer Chemagen 旗艦機種 Magnetic Separation Module I (MSM I)(圖五)為目前市面上效率最高的全自動核酸萃取系統，全程約45分鐘，與每次耗時半日的管柱法相比節省大量寶貴時間；萃取過程全自動化，大量減少人員操作負擔，減少人為誤差，確保產物品質穩定；藉由更換不同磁棒頭，除能一次進行96個樣品的高通量萃取外，樣品體積從10μL到10mL都能萃取，完美配合不同需求。另外能選配與原系統完美整合的分注器，一次能同時分注八種不同體積的不同溶液，強大功能進一步減少人員負擔，提升自動化萃取效率與精準度。



圖五、PerkinElmer Chemagen MSM I自動核酸萃取系統，可同時處理高達96個樣品，最大處理樣品體積可達10mL。

對於空間有限或樣品數目較少的實驗室，PerkinElmer Chemagen也提供了輕量型的自動化機種Prepito(圖六)，配備整合式分注器，能一次萃取1 - 12個樣品，最大樣品體積可達1000 μ L，同時內建條碼讀取功能及USB插孔，方便資料管理與儲存，兼具效率、完整功能與節省空間。另有各機種通用的操作軟體，簡單易上手，可即時監看儀器運作進度即預估時間，更容易掌握實驗流程。



圖六、PerkinElmer Chemagen Prepito整合式桌上型全自動核酸萃取系統，內建分注器，使人員操作時間減至最少。

PerkinElmer Chemagen 同時提供多種含M-PVA磁珠的DNA/RNA純化式劑套組(圖七)，擁有CE、IVD雙重認證，品質有保障；以10ml血液樣品為例，核酸產量高達300 μ g，效率極高！針對不同樣品設計專屬試劑套組，且涵蓋範圍廣，從血液、細胞、組織，乃至動物、細菌、病毒，甚至食物皆有專屬套組，滿足不同需求同時提升產物品質與再現性。試劑套組有良好適應性，不僅能搭配PerkinElmer Chemagen自動化系統，也能以手動操作，甚至搭配他種自動化儀器。

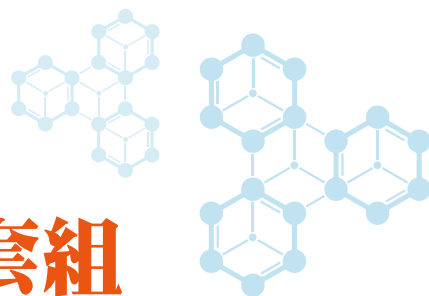


圖七、專利技術Chemagic核酸萃取套組試劑，CE、IVD雙重認證品質保證，高效率，高產量，選擇多元，符合各類樣品需求。

工業革命後的兩百年，因自動化製程的普及，將人類的生活水準提升到前所未有的高度，分子生物學發展近半世紀，也將逐漸脫離大量手工的實驗操作而走向自動化，相信在不久的未來，各種自動化設備將大大減輕研究人員的負擔，並弭除人為操作誤差，確保大量可靠數據收集的同時將分子生物學推向全新的高峰。



世界新潮流！ 游離核酸萃取套組



游離核酸(Circulating cell free DNA, CCFDNA)為出現在血液中且非位於細胞內的核酸。首次在1940年代由法國科學家Mandel與Metais發現；1977年Leon與其團隊發現胰臟癌病患血液中游離核酸含量明顯高於一般人；1994年科學家在胰臟癌病患血液樣本中偵測到突變後致癌基因(oncogene)K-ras，從此游離核酸受到廣泛的重視。近年來，除了以游離核酸偵測特定基因突變或修飾異常作為癌症風險指標外，有許多科學家嘗試將這項工具應用在更廣泛的領域，自體免疫疾病(如紅斑性狼瘡)、急性中風、感染等；其中游離核酸的大量增加是目前被認為少數有效預測急性中風的方法。

除檢驗疾病外，尚其他的應用，其中有一項特別受到大眾關注：1997年香港學者Dennis Lo發現胎兒游離核酸可自胎盤、臍帶進入母親血液中，我們因而得以分離出胎兒核酸，以次世代基因定序法(Next generation sequencing, NGS)進行胎兒基因檢測，由於此技術可進行檢測時間早(懷孕10週)，對唐式症檢出率高達99.5%，幾乎等同羊膜穿刺或絨毛膜採樣，同時不具侵入性，風險較低，具有相當市場潛力。另外近年報導指出將類似技術應用於接受器官移植的患者，檢測血液中游離的器官捐贈者核酸，其游離核酸量與排斥反應相關，未來或可做為一種預測器官移植排斥反應的方法。

PerkinElmer Chemagen 提供游離核酸萃取專用套組，能自1-4ml血液中有效分離血液中游離核酸，產物不需純化可立即進行PCR。配合 PerkinElmer Chemagen 自動核酸萃取系統，能於一個半小時內萃取24個樣本，兼顧省時省力高效率，是您生醫實驗研究最佳選擇！

產品資訊：

Cat. No.	Sample size (ml)	Completion time (min)	Sample material	Number of preps	system
CMG-1096	1	90	Serum/plasma	250	MSMI
CMG-1101	4	100	Serum/plasma	250	MSMI
CMG-1090	4	105	Serum/plasma	240	MSMI
CMG-2025	1	140	Serum/plasma	180	PREPITO