MERCK

Amicon® Ultra

UNIMED 騰達行

0800-211-819

Unimed 騰達行

www.unimed.com.tw

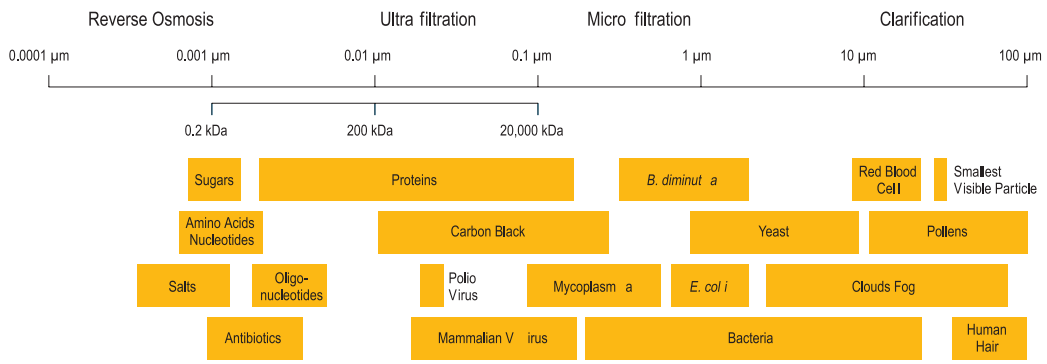
台北 02-2720-2215 新竹 03-6684-586 台中 04-2463-3591 嘉義 05-2844-162 台南 06-2890-665 高雄 07-3470-143 花蓮 03-8573-757

超濾 (Ultrafiltration) 常被用來分離樣品中極其微小的顆粒或分子，主要是以分子大小為最基本的考量，分離的效果則會受到樣品的化學性質、電荷等多種因素影響。

UF 膜既可以用在通透膜樣品的回收也可以用在保留膜上樣品的濃縮。在濃縮的應用上，超濾的方法相對於傳統的沉澱法而言，對樣品更加溫和，不會有生物分子失活的情況產生，還可以在濃縮的同時達到移除溶液中的鹽類物質，甚至可以再經由加入新的溶液，經過濃縮的步驟，來達到置換溶液的目的。

超濾的應用不限於蛋白質樣品的操作，也常用於核酸物質的製備。當 DNA 和 RNA 樣品起始濃度低至 5 ng/ml 時，可以在數分鐘內被濃縮，回收率達到 99% 以上。

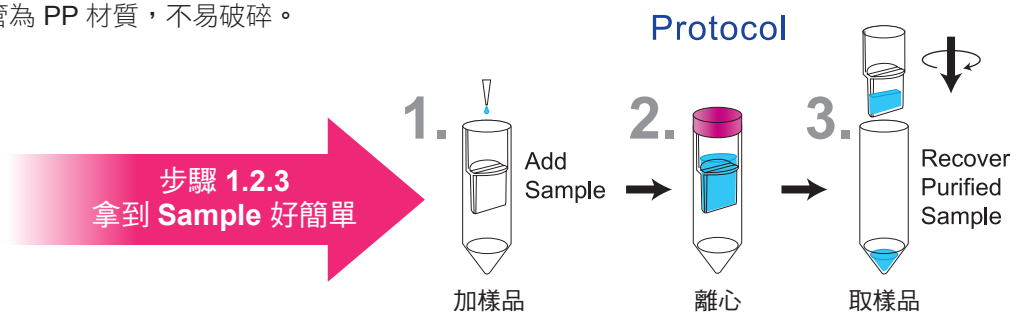
Comparison of ultrafiltration with other commonly used membrane separation techniques



Amicon® Ultra

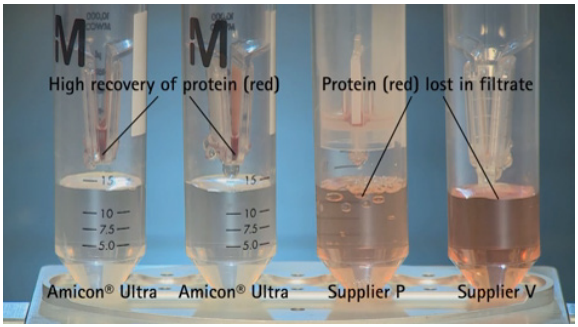
Amicon® Ultra

- 膜面積大
- 市面上唯一使用再生性纖維素膜材 (RC; Regenerated Cellulose)，蛋白質回收量高。珍貴樣本不流失。
- Dead volume stop 設計 ： 就算離心時間過久，也不用擔心樣品離到乾掉。並可計算最終的稀釋倍數。
- Heat sealing：不用擔心黏膠的膠體溶劑溶出，對 sample 產生影響。
- 回收率高：採用 TFF 方式濃縮，樣品不易堆疊，回收率高。
- 快速：使用濃縮離心管形式，不只可以濃縮還可以進行置換 buffer 的動作。
- 全程自動化生產，避免人為汙染。
- 每一支成品皆經過影像記錄。
- 法醫鑑定分析樣品的前置備處理。
- 化學溶液耐受度廣：可耐受 pH 1~9。
- 安全：離心管為 PP 材質，不易破碎。



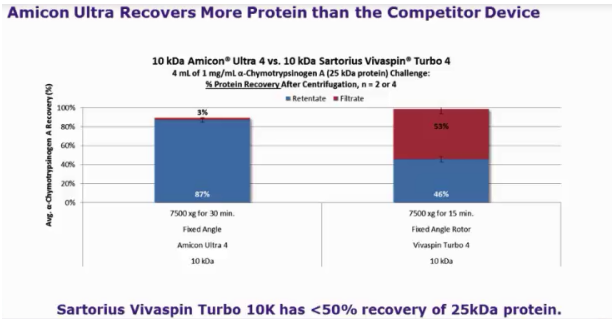
回收率就是高於他牌

Regenerated Cellulose　　PES Membrane



The Cytochrome C (red) is in the retentate

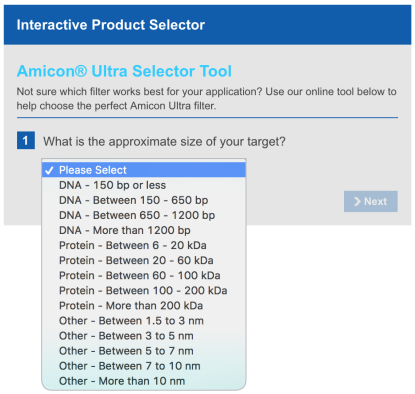
The Cytochrome C (red) is in the filtrate



常見問題

1. 如何選擇 Molecular Weight cutoff (MWCO) 或 Nominal Molecular Weight Limit (NMWL) ?

Ans : 超濾的分子量選擇，主要是取 Target protein 的 1/2，來當成是選膜的 cutoff 值。
也可以利用下方的網址，來幫助您快速的選擇適合的 Amicon Ultra 產品。
http://www.merckmillipore.com/TW/zh/20130916_185742



Amicon Ultra 選擇秘笈

2. Amicon Ultra 是否為無菌的，如果有無菌的需求要怎麼作 ?

Ans : Amicon Ultra 基本上不是無菌的包裝，如果濃縮後的樣品有無菌的需求時，可以搭配另一個產品 Ultrafree-MC GV Centrifugal Filter (Cat No. UFC30GVS) 來使用，即可達到無菌的需求。

3. Amicon Ultra 是否可重覆使用 ?

Ans : 重覆使用 Amicon Ultra 不只會有樣品或微生物汙染的問題，還會有膜孔阻塞的問題產生，導致濃縮效能降低。因此強烈建議此產品不可以重覆使用。

4. 是否可以利用 Amicon Ultra 來分離樣品中不同大小的蛋白質 ?

Ans : 可利用 Amicon Ultra 來分離樣品中不同大小的蛋白質，但是預分離的蛋白質必須相距 10 倍以上。

5. 在濃縮蛋白質時，出現沉澱的情況，該如何解決 ?

Ans : 蛋白質如果濃縮的速度太快或者是過度濃縮都有可能引起蛋白質沉澱。建議蛋白質濃縮後的最終濃度不要超過 20mg/ml 。對於容易產生沉澱的蛋白可以利用以下方式改善 :

A. 離心轉速下降，降為建議轉速的 30~50%。

B. 改用更大截留分子量的超濾管，例如原本使用 10 kDa 的可以改為 30 kDa。

C. 在濃縮的過程中取出超濾管，用 Tip 反覆吸取幾次之後再繼續濃縮。

6. 濃縮之後發現沒有濃縮液中沒有任何的標的蛋白，可能的原因？

Ans : 如果樣品存在於過濾液中，請先確認以下幾點 :

A. 是否選擇了合適截留分子量的超濾管 (Target protein 的 1/2)。

B. 使用的離心轉速是否在建議的範圍內，如果使用的是 rpm，請換算成相對應的 g force。

C. 離心機最近是否有校正過。

D. 有些蛋白的特性會影響濃縮的效果，建議可以選用較小的截留分子量的超濾管。

如果樣品也不存在濾液中的話，請確認以下幾點 :

A. 蛋白的起始濃度是否大於 Amicon Ultra 的建議起始濃度 25ug/ml。

B. 標的蛋白是否有沉澱的情況產生，如果有的話，請參考上題蛋白產生沉澱問題的解決方法。

C. 請確認是否有重覆使用 Amicon Ultra。

7. 使用濃縮管發現連水都無法離下來，可能的原因？

Ans : Amicon Ultra 膜中含有微量甘油，用來保護膜在儲存過程中不會龜裂。如果出現此情況，請先以 0.1 N NaOH 清洗在離心，最後再用 Mill-Q 水再次清洗後離乾。清洗後的濾膜應立即使用，如果暫時不用，請務必保持濕潤，避免乾燥。

8. 考慮到標的蛋白的穩定性或活性，是否可在 4℃ 的環境下進行離心？

Ans : 可以的，Amicon Ultra 可以在低溫環境下離心。但是低溫會增加樣品的黏性，導致流速變慢，離心時間可能會延長至原來的 1.5 倍。

MERCK

Amicon® Ultra 選擇祕笈

	Amicon Ultra-0.5	Amicon Ultra-2	Amicon Ultra-4	Amicon Ultra-15

	Starting Volume	<0.5 mL	<2 mL	<4 mL	<15 mL
Proteins					
Choose a rotor and G force	Final Volume	15 - 20 µL	15 – 70 µL	50 µL	200 µL
	Design of the Device	Standard 1.5 mL	Standard 15 mL	Standard 15 mL	Standard 50 mL
	Fixed-Angle (35 °) Rotor	14,000 g 1,000 g reverse spin	7,500 g 1,000 g reverse spin	5,000 g for 100k 7,500 g for all other MWCO	5,000 g
	Swinging Bucket Rotor	N/A	4,000 g 1,000 g reverse spin	4,000 g	4,000 g
Concentration Factor	Concentration Factor	X25 - X30	X14 – X67	X80	X75
Molecular Weight (MW)	6<MW<20k	3,000	3,000	3,000	3,000
	20<MW<60k	10,000	10,000	10,000	10,000
	60<MW<100k	30,000	30,000	30,000	30,000
	100<MW<200k	50,000	50,000	50,000	50,000
	200k<MW	100,000	100,000	100,000	100,000
Single-Stranded and Double-Stranded Nucleic Acids					
Length	137-1159 bp	30,000	30,000	30,000	30,000
	Time (30k)	10 min.	15 min., fixed angle 40 min., swinging rotor	10 min., 5,000 g, fixed angle	10 min., 5,000 g, fixed angle
Nanoparticles					
Particle Diameter (DIA)	1.5< dia< 3nm	3,000	3,000	3,000	3,000
	3< dia< 5nm	10,000	10,000	10,000	10,000
	5< dia< 7nm	30,000	30,000	30,000	30,000
	7< dia< 10nm	50,000	50,000	50,000	50,000
	10nm< dia	100,000	100,000	100,000	100,000

UNIMED 騰達行
0800-211-819
Unimed 騰達行
www.unimed.com.tw
台北 02-2720-2215 新竹 03-6684-586 台中 04-2463-3591 嘉義 05-2844-162 台南 06-2890-665 高雄 07-3470-143 花蓮 03-8573-757
U/A/UV060821