

開始您的LLPS 研究

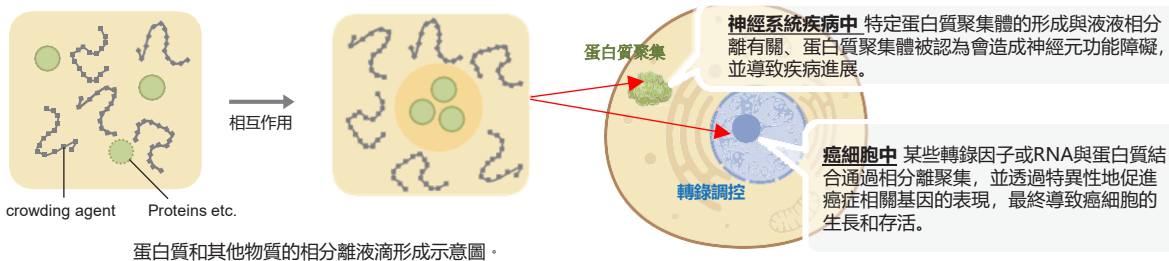


- ▶ LLPS Starter試劑組
LLPS Starter Kit
- ▶ LLPS形成條件探討試劑組
LLPS Forming Condition Screening Kit

富利瀚生物科技有限公司
FoliBio Technology Co., Ltd.
www.folibio.com.tw (02)2731-9370

液-液相分離 (LLPS)

液-液相分離 (liquid-liquid phase separation: LLPS) 是指某些分子在細胞內局部聚集形成具有類似液體特性的生物分子聚集體的現象。近年來，LLPS 已被證實會影響細胞內的一系列生物過程。儘管對液-液相分離形成的凝聚物的研究仍處於起步階段，但這些生物現象如何影響細胞功能和疾病的發展是開發新療法的關鍵。

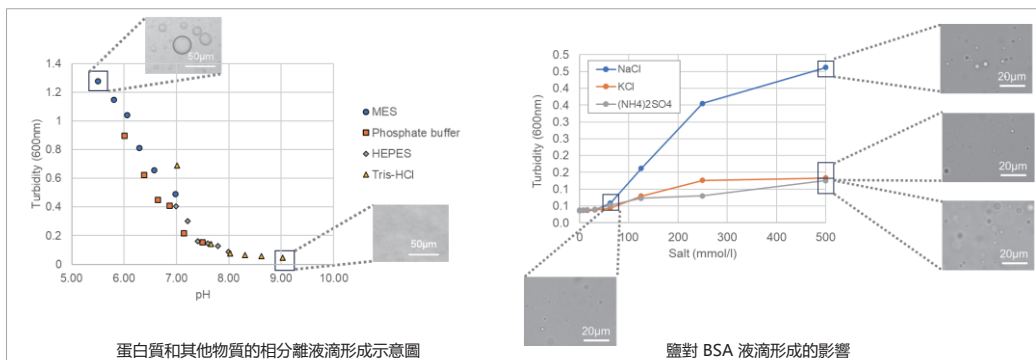


參考文獻 E. Dolgin, Nature, 2018, DOI: 10.1038/d41586-018-03070-2.

如何開始LLPS 研究

LLPS研究的難點在於需要探索最佳條件，並且使用的試劑種類繁多

通常，在開始LLPS研究時，研究者會通過非細胞系統確認目標蛋白質是否形成液滴。然而，這一步驟的最佳條件因蛋白質而異，需要考慮諸如pH值、鹽的種類、分子擁擠劑的有無等多種因素。同時，還需要準備大量的試劑，這使得首次實驗時會消耗大量時間。
※ 分子擁擠劑 (Molecular Crowding Agent)：為了再現細胞內擁擠環境而添加的高分子物質，如PEG和Ficoll等。



液滴觀察&確定產生液滴的條件

<p>▶ 液滴生成和觀察方法 LLPS Starter Kit</p> <ul style="list-style-type: none"> 觀察液滴只需pipette和顯微鏡 詳細操作說明，包括計算方式 可作為液滴產生的positive control <p>Scale bar: 10 μm</p>	<p>確定目標蛋白質液滴的最佳條件 LLPS Forming Condition Screening Kit</p> <ul style="list-style-type: none"> 研究液滴製備條件的試劑組 可使用本試劑組研究擁擠劑、pH 值和鹽分 可通過混合不同 pH 值的緩衝液進行調節pH 說明書中詳細介紹如何調節緩衝溶液的 pH 值
---	--

使用試劑組開始實驗

▶ 液滴產生和確認觀察方法 LLPS Starter Kit：試劑組內含

1. 蛋白	BSA	10 mg × 1
2. 緩衝液	BSA Dissolving Buffer (20 mmol/l HEPES, 150 mmol/l NaCl)	420 μl × 1
	Assay Buffer (60 mmol/l HEPES, 450 mmol/l NaCl)	100 μl × 1
3. 攪拌劑	30% PEG8000 Solution	100 μl × 1
4. 觀察容器	Slide Glass with Double-Sided Tape	× 2
	Cover Glass	× 4
5. 準備容器	1.5 ml Micro Tube	× 4
	0.5 ml Micro Tube	× 4

▶ 確定目標蛋白質液滴的最佳條件 LLPS Forming Condition Screening Kit：試劑組內含

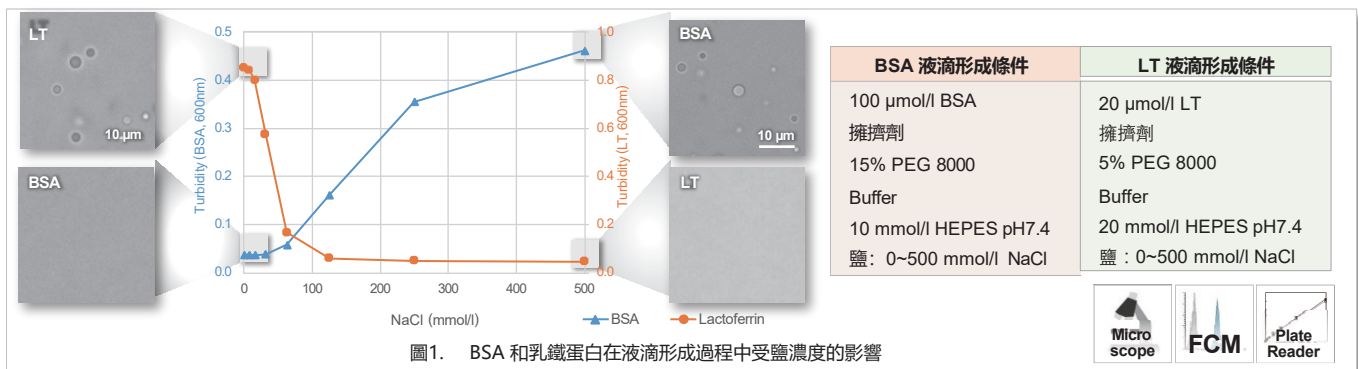
1. 攪拌劑	PEG400 (液體)	15 g
	PEG4000 (粉末)	15 g
	PEG8000 (粉末)	15 g
2. 緩衝液	500 mmol/l MES Buffer Solution pH 5.5 / pH 7.0	各 10 ml
	500 mmol/l Phosphate Buffer Solution pH 6.0 / pH 7.5	各 10 ml
	500 mmol/l HEPES Buffer Solution pH7.0 / pH8.0	各 10 ml
	500 mmol/l Tris-HCl Buffer Solution pH7.0 / pH9.0	各 10 ml
3. 鹽類	2 mol/l Sodium Chloride Solution	20 ml
	2 mol/l Potassium Chloride Solution	20 ml
	2 mol/l Ammonium Sulfate Solution	20 ml

實驗案例 液滴形成過程中的蛋白質相互作用（性質）的探討

當蛋白質通過 LLPS 形成液滴時，會涉及各種相互作用，包括利用蛋白質電荷的靜電相互作用和高度疏水蛋白質的疏水相互作用。

α-突觸核蛋白 (αSyn) 是帕金森的致病蛋白之一，已知可通過LLPS導致液滴形成，磷酸化突變可促進病變形成過程中的聚集^{*2}。

在此，我們使用 LLPS Starter Kit和 LLPS Forming Condition Screening Kit 來確定 BSA 和乳鐵蛋白 (LT) 液滴形成過程中蛋白質與蛋白質之間相互作用的差異：BSA 是疏水相互作用，而乳鐵蛋白是靜電相互作用。通過增加鹽濃度 (NaCl) 來抑制靜電作用，可抑制 LT 液滴的形成，這證實了 LT 液滴主要是通過靜電作用來形成和維持的，如下圖所述 (圖 1)。另一方面，BSA液滴的形成隨NaCl濃度的增加而增強 (圖1)，這可能是因為鹽濃度的增加拉近了蛋白質之間的距離，加強了疏水作用。



產品名	容量	貨號
LLPS Starter Kit	1 set [*]	LL01
LLPS Forming Condition Screening Kit	300 tests	LL02

搭配使用

※ (大約使用次數) 每套 2 張玻璃載玻片 (4 tests), 96 孔板 ○

產品名	容量	貨號
Cellular Senescence Detection Kit - SPiDER-βGal	10 assays ^{*1}	SG03
Cellular Senescence Plate Assay Kit - SPiDER-βGal	20 tests	SG05
	100 tests	
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Green	1 set ^{*2}	G265
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Red	1 set ^{*2}	G266
DNA Damage Detection Kit - γH2AX - Deep red	1 set ^{*2}	G267
Nucleolus Bright Green	60 nmol ^{*3}	N511
Nucleolus Bright Red	60 nmol ^{*3}	N512

*1: 10assays = 35mm dish x 10, μ-Slide 8 well x 10

*2: 1 set = 35mm dish x 1, μ-Slide 8 well x 1

*3: 60nmol = 35mm dish x 30, μ-Slide 8 well x 30

