

EBIOTECH

生物通技术周刊

第40期

2008年9月10日

[技术前沿]

细胞毒性分析
解析蛋白结晶的过程

[新品速递]

膜蛋白的表达也能轻松实现
Affymetrix推出全新的体外转录表达试剂盒

[应用指南]

实时定量PCR:了解影响CT的关键因素
赛默飞世尔科技推出的Nicolet IN10 MX 红外成像显微镜可获得超快速可靠的混合物分析

[行业动态]

Sigma-Aldrich也涨价了!
GE和Alpha Innotech达成战略联盟关系
Millipore联手安捷伦开发ChIP试剂盒

主办:  生物通
www.ebiotrade.com

一、技术前沿:

细胞毒性分析

解析蛋白结晶的过程

二、新品速递

膜蛋白的表达也能轻松实现

Affymetrix推出全新的体外转录表达试剂盒

三、应用指南

实时定量**PCR**:了解影响**CT**的关键因素

赛默飞世尔科技推出的**Nicolet iN10 MX**

红外成像显微镜可获得超快速可靠的混合物分析

四、行业动态

Sigma-Aldrich也涨价了!

GE和**Alpha Innotech**达成战略联盟关系

Millipore联手安捷伦开发**ChIP**试剂盒



[点击下载全文](#)

生物通版权所有 谢绝转载

本期责编: 余亮

制作: 廖旭霞

广告联系电话: 020-87511980

欢迎访问

www.ebiotrade.com



细胞毒性分析

新的药物、化妆品、食品添加剂等在投入使用之前，都必须进行大量的细胞毒性试验。如果是抗癌药物，细胞毒性就是它们作用的关键所在；而其他药物或化妆品等，则恰恰需要证明它们是没有毒性的。因此对于细胞毒性的研究也随研究目的的不同而不同。对于抗癌药物可能旨在将细胞杀死，而要证明其他化合物没有毒性则需要更精确的研究，如监控细胞代谢水平的变化或信号通路的改变。

目前分析细胞毒性和细胞活性的方法有很多种，而且渐渐显露出这样的趋势，就是远离同位素，方法越来越简单，适用于高通量自动化分析。例如大家熟悉的 ^{51}Cr 释放实验，是分析细胞介导的细胞毒性的经典方法，但由于需要使用同位素，不安全，研究人员于是不断开发出新的替代方法。目前常用的细胞毒性方法则有台盼蓝染料排斥法、LDH 法、MTT 法、AlamarBlue 等等。下面就给大家一一介绍。

有多少细胞死了

经典的评估细胞死亡的方法是定量细胞膜的损伤。常见的台盼蓝染料排斥法就是基于细胞膜通透性的改变。台盼蓝这种染料在正常情况下不能透过细胞膜，进入细胞。当细胞死亡(失去活力)时，其细胞膜因破损而被台盼蓝染料透过。通过对未着色细胞的计数，就可以估算出细胞活力。市场上的一些细胞活力分析仪如 GE 的 Cytorecon 和贝克曼库尔特的 Vi-CELL 系列，也是用这种方法来测定细胞活力。不过染色时间要控制在 1-2 分钟，不宜过长，否则活细胞会受到损伤而吸收染料，影响实验结果。这种方法简单快速，价格低廉，准确性还行，不过用于高通量分析就太累了(除非你用仪器)。类似的染料还有 PI。

另一种检测细胞膜完整性的方法就是检测从胞浆释放到培养基中的成分。大家比较熟悉的有 ^{51}Cr 释放法。不过不需要使用同位素的乳酸脱氢酶 (LDH) 活性释放分析则成为它的极佳替代。LDH 在胞浆内含量丰富，正常时不能通过细胞膜，当细胞受损伤或死亡时可释放到细胞外，此时细胞培养液中 LDH 活性与细胞死亡数目成正比，用比色法测定并与靶细胞对照孔 LDH 活性比较，可计算效应细胞对靶细胞的杀伤效果。此方法不需要预先标记，操作简便快捷，自然释放率低，可用于细胞毒性 T 淋巴细胞及 NK 细胞活性测定，以及药物、化学物质或放射引起的细胞毒性。配合 96 孔板或 384 孔板，可用于高通量检测。不过应注意较高浓度血清中所含的 LDH 可能会干扰结果，应使用只含有培养基和血清而不含细胞的孔作为对照。丙酮酸盐是 LDH 反应的抑制剂，应避免细胞培养基中含有该成分。市场上畅销的产品有 Roche 的 Cytotoxicity Detection Kit PLUS (LDH)，和 promega 的 CytoTox 96 (比色法)、CytoTox-ONE (荧光法) 等。

有多少细胞还活着

MTT 法是目前应用最广泛的细胞活性测定方法。MTT 是一种黄色水溶性四唑染料，

它可以被活细胞还原成紫色的不溶于水的甲臜 (Formazan) 产物并沉积于细胞中, 而死细胞则不能。DMSO 能溶解细胞中的 Formazan, 用酶标仪在 490nm 波长处测定其光吸收值, 可间接反映活细胞的数量。该方法灵敏度较高, 而且适合大规模检测, 不过也会受到很多因素的影响。如 pH 值, 在偏碱性的环境中本底偏高, 稳定性较差, 结果随放置时间延长而升高; 偏酸性溶液的实验结果比较稳定。而酚红和血清也会对实验产生影响。酚红在 pH 7.0 以上试液中呈红色, 在 570 nm 有较大光吸收值。血清蛋白在有机溶剂中容易变性形成絮状沉淀, 影响透光度。而且在实验中还要摸索最优的时间点和细胞数, 所以虽然 MTT 法看起来很简单, 注意事项还是相当多的, 菜鸟们可千万不要掉以轻心哦。

由于 MTT 还原后产生的 Formazan 不溶于水, 还要再用 DMSO 溶解, 这不仅增加了工作量, 还会对实验的准确性产生影响, 因为在吸上清时也会吸走一部分 Formazan 结晶。基于以上种种不便, 研究人员又开发了更多的四氮唑盐类: 如 XTT、WST-1、CCK-8 (WST-8) 等。它们的还原产物都是水溶性的, 使用更为方便, 省去了洗涤细胞的步骤, 也无需用到有机溶剂。而 WST-1 和 WST-8 与 MTT、XTT 相比毒性小, 灵敏度更高, 也更稳定, 不用每次都现配溶液, 当然, 价格也更贵。

上述这些方法都是对细胞毒性或活力的终端分析, 不能够连续监测。如果对实验条件已经优化好了, 那么这些方法都很有用。但是, 当优化一种抗癌新药的细胞毒性分析时, 这些方法可能就不大好使了。举个例子吧, 如果用 MTT 法分析, 发现一种抗癌药物在某个时间点如 6 小时没有作用, 那么在下一个时间点

你又要重新做一次实验。为了摸索最佳的时间点和药物浓度, 你可能要进行 N 多次实验, 工作量非常大。而现在就有了一个更好的选择 -alamarBlue。它是活细胞代谢指示剂, 易溶于水, 进入细胞后经线粒体酶促还原产生荧光及颜色变化, 可用于定量。在工作浓度时没有毒性, 不影响细胞正常代谢及基因表达, 可在无菌条件下测定后继续培养扩增细胞, 有利于对培养细胞的连续监测及深入研究。而且使用更方便, 无需预先标记靶细胞及离心、洗涤步骤, 适用于大批量样品的自动测定。不过要注意一点, 使用无酚红的培养基。

动态监测细胞毒性

如果你需要自动化的实时分析, 现在也可以做到了。Roche 与 ACEA 公司合作, 开发了 xCELLigence 系统。它利用阻抗的电子读数来非侵害性地实时量化细胞状态, 提供了一种非标记的细胞增殖和活力的实时动态监控。细胞接种在 E-Plate 微量滴定板中, 在每个孔的底部有嵌入的微电子感应器。细胞与微电极表面的相互作用产生了细胞-电极的阻抗反应, 它不仅反映了细胞活力, 还与接种的细胞数量对应。它无需标记, 不但节省时间、劳动力和资源, 还能进行更多生理相关的分析。xCELLigence 系统能提供细胞毒性的发生信息以及实时的 IC-50 值, 而不像普通的分析那样只提供单点的 IC-50 值。此外, 实时数据产生的动力学图像可以使研究人员对药物相互作用的形式和机理有一个更好的了解。另外, 由于每一种化合物或药物与靶细胞相互作用时都有其特征图像, 在确定药物与未知靶点间的作用机理时, 阻抗技术可能会有所帮助。ACEA 还利用这项技术来检测环境毒素的作用。

高内涵筛选 (HCS)

近年来,多种体外筛选模型和分析方法结合自动化技术发展起来的高通量筛选技术对创新药物的研究起到了不可替代的作用。虽然高通量药物筛选的结果较为准确,易于评价,但检测模型是建立在单个药物作用靶分子的基础之上,无法全面反映被筛样品的生物活性特征和保证细胞的完整性。在这种情况下,高内涵筛选(High Content Screening, HCS)应运而生。高内涵筛选,是指在保持药用物质细胞结构和功能完整性的前提下,同时检测被筛样品对细胞形态、生长、分化、迁移、凋亡、代谢途径及信号传导各个环节的影响,在单一实验中获取大量相关信息,以准确确定其生物活性和潜在毒性。在新药研究的早期阶段应用这项技术,可获得活性化合物对细胞产生的多重效应的详细数据,包括细胞毒性、代谢调节和对其他靶点的非特异性作用等,从而显著提高发现先导化合物的速率,加快新药开发速度和提高药物筛选质量。

国家新药筛选中心是国内首家启用高内涵药物筛选技术的研究单位,所用平台就是Thermo Fisher的Cellomics ArrayScan设备。赛默飞世尔为药物筛选的研究人员提供了高内涵筛选的完整解决方案。Cellomics家族包含自动成像仪器、BioApplication图像分析软件和高内涵信息学,以及试剂和服务,应用在科研和药物筛选的各个方面。

GE公司的高内涵分析系统也不容小觑,其主打机型IN Cell Analyzer 1000 获得了全球权威咨询机构Frost & Sullivan颁发的2007年细胞分析领域的技术革新奖。IN Cell Analyzer是运用了当今最先进的模块化快速自动成像技术的高内涵活细胞分析系统,其高度灵敏的成像技术使得科学家们能够轻松地研究细胞变化过程中的真实生物学进程,目前,IN Cell Investigator分析软件和IN Cell Analyzer自动化细胞成像仪器已经被广泛应用于基础研究和药物发现领域。在此基础上,GE继续在高内涵筛选的硬件平台上不断创新。例如,新推出了光学共聚焦成像辅助系统以进一步提高细胞图像质量;环境控制辅助系统用以更长时间观察活细胞。光学共聚焦成像辅助系统(optical Z-sectioning)采用了专利的硬件软件结合模式,成像时只采集聚焦平面上的光信号,排除了聚焦平面上下带来的荧光信号干扰,使得研究者可以输出媲美激光共聚焦显微镜的高质量2D和3D细胞图像。环境控制辅助系统通过特别的细胞微孔板腔体设计,能够准确地控制细胞所处环境的温度,湿度和CO₂浓度,使得连续长时间观察活细胞的动态变化成为可能,该系统支持连续观察时间长达72小时,真正做到“边培养,边观察”的水平。



解析蛋白结晶的过程

说起蛋白结晶，中国可有着很悠久的历史呢。1965 年中国首次人工合成了结晶牛胰岛素。这是第一个与天然蛋白有着相同性质并具有生物活性的人工合成蛋白，也是蛋白结晶的首个成功例子。2004 年，中国科学院生物物理研究所常文瑞研究员发现的菠菜主要捕光复合物(LHC-II)的晶体结构，以封面形式在《Nature》杂志上发表（图 1）。

最近，饶子和院士等在《Nature》杂志上发表文章，展示了禽流感病毒 H5N1 聚合酶内部的晶体结构。此外，饶教授已经解析出了 50 多个重要蛋白质的晶体结构，包括艾滋病病毒基质蛋白 SIV-MA、IgA Fc 受体（CD89, JBC 的封面，图 2）、第一个 SARS 病毒蛋白 -3CL PRO。看着饶教授的丰硕成果，大家可能都很感兴趣蛋白结晶是怎么样做的，简单说吧，就是将表达目的蛋白的 DNA 片段 PCR 之后克隆到表达载体上，然后在大肠杆菌中诱导表达，得到大量的蛋白并纯化，摸索结晶条件，等它结晶（时间长短不定），拿到晶体之后进行 X 射线衍射，收集衍射图谱，通过计算，很快就能得到蛋白质的原子结构。看上去似乎很简单，其实不然。在 1971 年蛋白数据库 PDB (www.pdb.org) 刚刚成立时，只有可怜的 7 个蛋白结构；不过蛋白结晶的方法也在不断改进，因此 PDB 的结构数也呈指数增长，目前已达到了 52684 个。生物通就结合饶教授的文章，给大家解析一下蛋白结晶的过程。

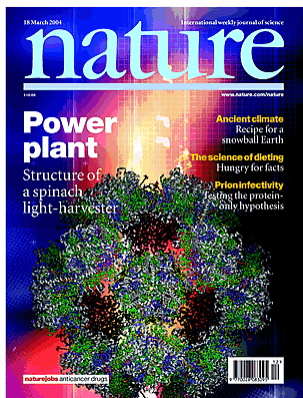


图 1 LHC-II 的晶体结构

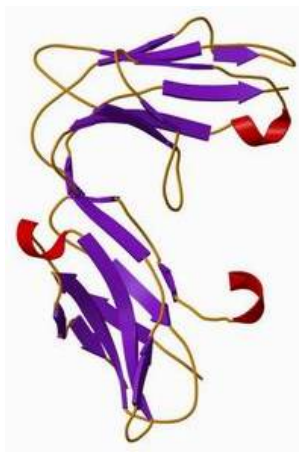


图 2 IgA Fc 受体的结构

1. **蛋白表达和纯化** 这个大家都比较熟悉了，简单说一说。用 PCR 扩增目的蛋白的结构域。PCR 产物纯化后克隆到大肠杆菌表达载体上。饶教授在两篇文章中分别用了 pGEX 6p-1 (GE Healthcare)¹ 和 pET-28a (Novagen)² 的载体，然后在大肠杆菌 BL21 (DE3) 菌株中进行表达，再利用相应的层析柱纯化，如果需要的话，还要用蛋白酶将较大的标签切除。这一步的关键是得到大量纯化的蛋白质 (>10mg)，其浓度通常在 10mg/ml 以上，才能进行结晶条件的筛选。不过蛋白表达量高了，经常就会形成包涵体，所以还要优化变复性的条件，使蛋白正确折叠。

2. **蛋白结晶** 蛋白质晶体的培养，通常是利用气相扩散 (Vapor Diffusion) 的原理来完成；也就是将含有高浓度的蛋白质 (10~50mg/ml) 溶液加入适当的溶剂，慢慢降低蛋白质的溶解度，使其接近自发性的沉淀状态

时，蛋白质分子将在整齐的堆栈下形成晶体。包含纯化蛋白、缓冲液和沉淀剂的小液滴，与大样品池中相似缓冲液和更高浓度沉淀剂之间形成平衡。起初，蛋白溶液的小液滴包含了低浓度的沉淀剂，随着水分蒸发并转移到大样品池中，沉淀剂浓度也增大到最适合蛋白结晶的水平。当系统处于平衡状态，这种最佳条件就继续维持直至晶体形成。

两种最主要的气相扩散方法分别是悬滴

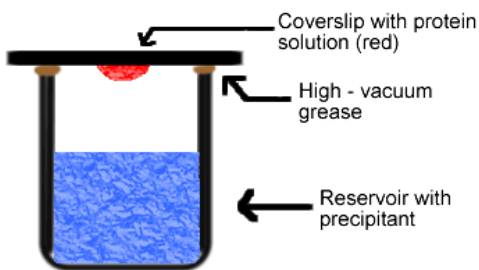


图 3 悬滴法

每一种蛋白质形成结晶的条件皆有所差异。影响晶体形成的条件很多，包括 pH 值、温度、离子强度、盐的比浓度、有机添加剂、还原剂和去污剂等，因此蛋白质结晶所需进行的试验数量是巨大的。到目前为止，还没有一套理论可以预测结晶的条件，所以必须不断测试各种条件的组合，才可能得到一颗完美的单一晶体。看起来是不是有点像“不可能的任务”，所幸现在也有商业化的结晶平台推出。

QIAGEN公司推出了[EasyXtal](#) 及[NeXtal](#) [蛋白结晶平台](#)系列产品，为蛋白结晶研究提供了新的实验工具，让我们能在最短的时间内获得最广范围的条件筛选，快速完成晶体培养实验。[EasyXtal](#) 及[NeXtal](#)蛋白结晶平台有 1824 种无冗余的蛋白结晶条件，包含了促进蛋白结晶最显著的试剂，采用网格筛选、稀疏矩阵筛

(hanging drop) 和坐滴 (sitting drop) 法。它们之间的区别就在于蛋白液滴在容器中的位置不同(图3和图4)。坐滴法中蛋白溶液(红色)位于大样品池溶液(蓝色)上方的底座上，与悬滴法相反。一般来说，悬滴法比较常用。而坐滴法更有利于利用显微摄像技术自动监测蛋白质的结晶情况,相对来说更适于高通量蛋白质结晶。不过两种方法都需要从外面封闭的密封的容器。

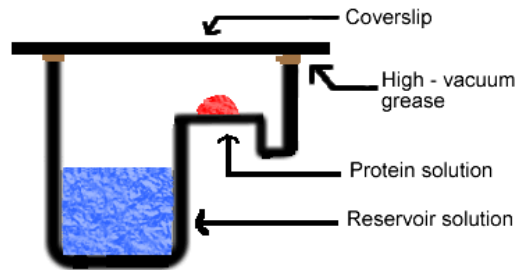


图 4 坐滴法

选、离子采样筛选三种蛋白结晶筛选策略或其有机组合，可以对蛋白质、多肽、核酸、大分子复合物以及水溶性小分子等进行结晶条件的筛选。

如此大的工作量，用手工来完成，一是太累，二是太慢。多种不同结晶条件的筛选过程的趋势是自动化，是因为该过程要求建立成百上千的相似实验以找到为数甚少的合适结晶条件。自动化显著地提高了实验通量，改进了实验的可重复性，并且由于实验最小化容许使用少得多的昂贵的蛋白质和结晶溶剂而降低了费用。不过，自动化过程中的一个挑战是必须能够移取不同粘性的溶液；另一个挑战为液滴定位：微小液滴必须被极其精确地放置，以使蛋白质液滴和结晶溶剂的液滴能彼此融合且不受结晶池的边缘干扰而变形。

TTP LabTech公司的纳升级液体处理工作站-Mosquito Crystal是目前唯一能在96孔板上进行自动化蛋白晶体悬滴生长的仪器。顾名思义,以蚊子来命名微量液体分装设备,不乏幽默之意。Mosquito可从样品板中一次一排地吸取和分配液体,使得微量的蛋白质溶液可分配到一个悬滴生长板盖的所有96个“窗口”上。同时这也意味着结晶溶剂的微滴能以镜像方式加入到蛋白质液滴之上,然后倒转板盖,微滴就被放置到相应的微孔之上。

Mosquito用于悬滴法晶体生长的优势包括:悬滴设置在两分钟之内即可完成,无需湿度控制;只需常规的(便宜的)平底96孔板和板盖;在添加筛选溶液时更换加样针避免了清洗步骤;自动化设置保证了准确性和可重复性。

对于坐滴法, Mosquito可将液滴高度精确地定位到标准结晶板的结晶池中央或者原有液滴之上,即使使用更小的液滴也不必担心蛋白质微滴和结晶溶剂微滴不会融合在一起。当利用成像系统自动筛选微滴时,由于目标区域小很多,晶体更容易被找到。系统设置速度快, 4分钟可完成一个三结晶池96孔的Greiner结晶板设置。

Mosquito的精密性和可重复性允许用户在每个微孔中设立若干个多成分的液滴——即使在高密度的96孔悬滴晶体生长板中,以便同时评估不同的样品、结构、复合物、蛋白质修饰(如携带不同的标签或构建不同的截短体)、蛋白质/池液体积比或者蛋白质浓度对晶体生长的影响。可以在一个坐滴或悬滴晶体生长板中产生288个条件,帮助研究人员节省了宝贵的时间和蛋白样品

3. 数据收集、构建模型 盼星星、盼月亮,终于盼到结晶出现,就可以进行X射线衍射了。快速将晶体降到接近液氮的温度,以减少热力学振动(增加分辨率);将晶体固定在一个针上,并置于X射线光路中;用X射线照射,用检测仪记录衍射图;旋转晶体,收集更多的衍射图;通过电脑计算,将衍射图转换成二维电子密度图,显示原子的位置;结合多个二维图,得出三维图像;用已知的氨基酸序列及结构合理的相关知识,构建一个符合衍射图像的蛋白模型。

以上就是蛋白结晶的大致流程了。如果大家还想了解更多的细节,可以查看饶子和教授等近期发表的文章。



膜蛋白的表达也能轻松实现

膜蛋白在细胞间接触、表面识别、信号转导、酶活性和运输方面都扮演着重要的角色。由于它们功能多样，也就成为理想的药物靶点。然而，对于膜蛋白的研究一直是很有挑战性的，因为它们的表达对细胞来说可能是毒性的，或者是表达中形成包涵体，因此蛋白产量不高，而反反复复的优化又相当耗费时间。缺乏理想的实验手段像一座屏障拦住了许多研究者。

不过技术总在进步，新产品也不断涌现。Invitrogen 最近就推出了 MembraneMax™ 蛋白表达试剂盒，帮助你克服以上的挑战，得到高产量可溶性的膜蛋白。它的秘密武器就在于其中专利的 MembraneMax™ 试剂。

MembraneMax™ 试剂 (图 1 左上) 与细胞膜有点类似，是优化的脂-蛋白配方，包含纳米脂蛋白颗粒 (nanolipoprotein particles, NLPs)。NLPs 是圆盘形的颗粒，直径约为 10nm，外环是一种专利配方的支架蛋白，中间是脂双层。它提供了与细胞内相似的环境，帮助膜蛋白正确折叠 (图 1 右下 膜蛋白嵌在其中)，避免了蛋白聚集，同时也省去了反复优化的繁琐步骤。与 Invitrogen 的 Expressway 体外表达系统结合，MembraneMax™ 试剂就能生产出微克至毫克级的可溶膜蛋白。在蛋白合成结束之后，膜蛋白可以从脂双层的任一侧取出。

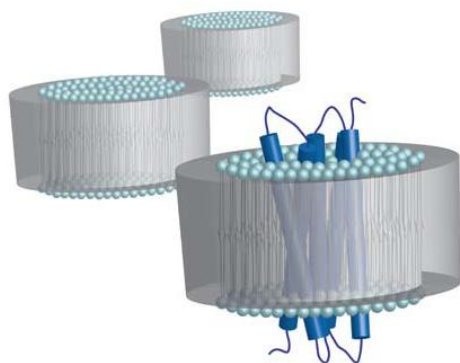


图 1 MembraneMax™ 试剂

高产量 Invitrogen 利用

MembraneMax™ 蛋白表达试剂盒试验了多种不同大小 (8-51kDa) 和复杂度 (2-7 个跨膜结构域) 的膜蛋白表达，如血型糖蛋白、细菌视紫红质等，发现大部分蛋白产量都大于 0.1mg/ml，这对于很多下游应用来说都是足够的。

蛋白可溶性增强 蛋白表达中最常见的问题就是重组蛋白可溶性低，经常以包涵体形式出现，对于膜蛋白来说尤其如此，因为它拥有多个亲水和疏水结构域以及复杂的折叠元件。MembraneMax™ 试剂则提供了一个更好的环境，帮助膜蛋白正确折叠。

操作简便 将编码膜蛋白的基因克隆到 T7 大肠杆菌表达载体上，然后将载体与大肠杆菌提取物、MembraneMax™ 试剂混合，孵育 2 小时，就可以进行纯化了 (图 2)。一天之内你就能得到毫克级的可溶膜蛋白了。操作非常简单，因此很容易升级到多个样品的高通量表达筛选或某个膜蛋白的大规模生产。试剂盒中包含了表达所需的所有组分和对照载体，不过不包含表达载体和检测用的抗体，以及纯化试剂，需要单独订购。

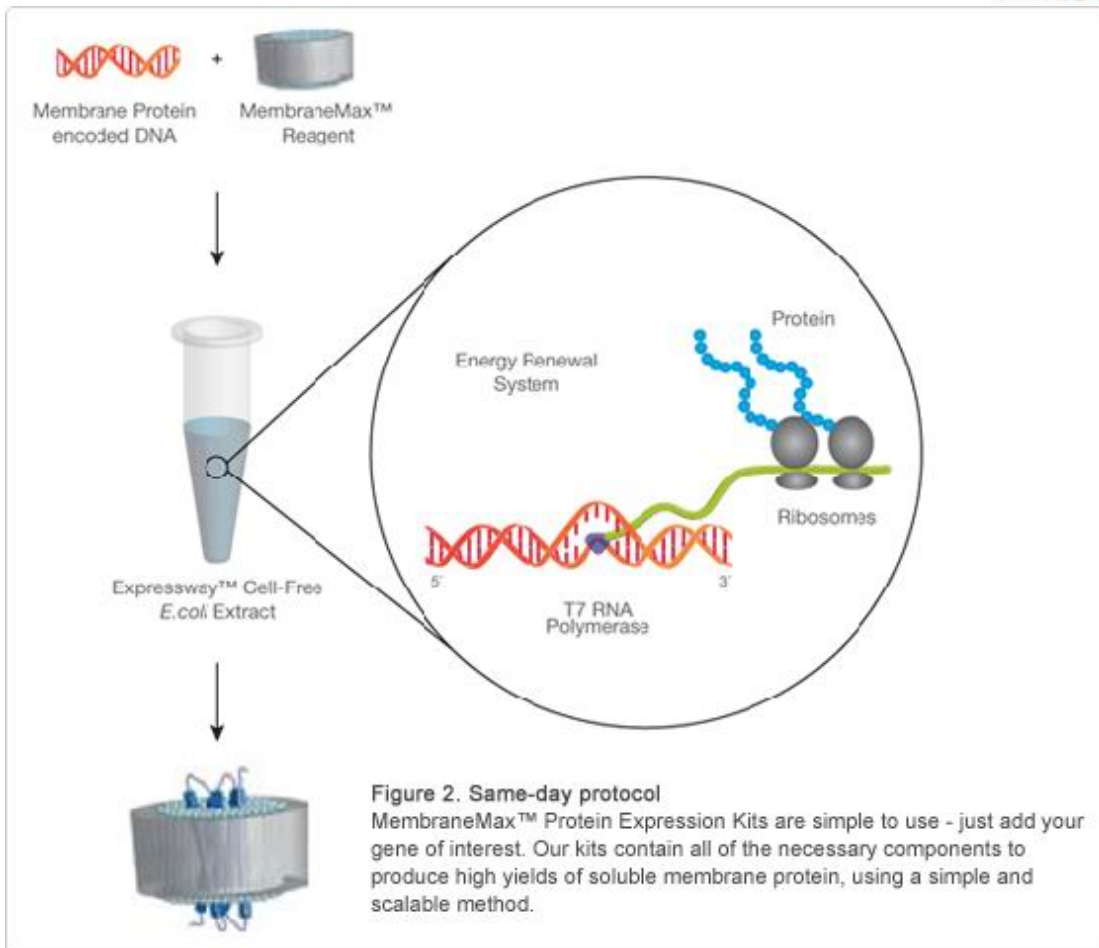


图 2 实验步骤概览

MembraneMax™试剂有两种形式：

native MembraneMax™和 His-tagged MembraneMax™。His-tagged MembraneMax™试剂包含 His 标签，因此你无需在膜蛋白上加标签，都可以很轻松地进行纯化。而如果你的膜蛋白本身已经带有了 His 标签，就不能用这种了，要用 native MembraneMax™。

MembraneMax™蛋白表达试剂盒的优

势：

- 可溶性和单分散膜蛋白的生产
- 通过无细胞表达系统得到微克至毫克级的膜蛋白
- 天然蛋白和有标签的蛋白都可以很方便地纯化和富集
- 表达有毒性的膜蛋白
- 膜蛋白的合成反应简单，很容易扩展到高通量应用

逆转录酶“快”乐体验



精品推荐奖



U 盘



哈根达斯冰淇淋券



电影券 (限上海客户)



上海书城购书券
(限上海客户)

QuantiTect Reverse Transcription Kit

- 全程只需 20min
- 带有 Oligo-dT 和随机引物
- 双重逆转录酶混合物, cDNA 产量高
- 5' 端的片段也可以得到高效逆转录
- 独特 buffer, 2 分钟去除 gDNA 污染

加量
20%

凡订购 QuantiTect RT kit, 即加送 20% 试剂

精品
推荐奖

如果您还向朋友推荐了此 kit, 每成功推荐一次, 您可获得“精品推荐奖”一份

货号	205311	205313
目录价	¥2,690	¥9,160

备注:

1. 活动有效期: 2008 年 9 月 1 日 -11 月 30 日, 依据下订单的时间为准。“每成功推荐一次”是指您订购了而且您的朋友也订购了 QuantiTect RT kit, 数量, 包装不限。
2. 奖品为价值 100 元的 U 盘, 哈根达斯冰淇淋券, 电影券 (限上海客户), 上海书城购书券 (限上海客户), 任选其中的一份。
3. 奖品领取方式: 须填写下面的《精品推荐奖领取表格》, 经 QIAGEN 核实有效后于活动结束后统一寄送奖品。
4. 凯杰生物技术 (上海) 有限公司保留此次活动最终解释权。

备注: 打 “*” 号的为必填项目, 填写完整后将以上两个表格以 email 或传真的方式发送至 QIAGEN, 或者直接在生物通网站上填写。

E-mail 发送至: Cindy.Coo@qiagen.com; 传真: 021-38653965。凯杰生物技术 (上海) 有限公司保留此次活动最终解释权。

凯杰生物技术 (上海) 有限公司

电话: + 86-21-3865 3865 技术支持热线: 800-988-0325 Techservice-cn@qiagen.com www.qiagen.com

Affymetrix 推出 全新的体外转录表达试剂盒



Affymetrix 公司近日宣布推出了 3' IVT Express Kit, 为 3' 表达芯片制备提供了更快、更可靠的选择。这个试剂盒包含了 3' 表达研究中所有必需的标记和对照试剂, 使用了新的实验流程, 需要的起始样品量更少, 能使研究者更快得到高质量的基因表达结果。

起始样品量更少对于癌症研究者来说非常重要, 因为样品很宝贵。3' IVT Express Kit 只需要 50ng 的样品, 比以前的 One Cycle Kit 节省了 20 倍。另一个好处就是 500ng 的起始样品只需一天就可以分析完, 而以前的 One Cycle Kit 要两天。

McGill 大学和魁北克基因组创新中心的高级主管 Daniel Tessier 表示: “我们收到的样品中有三分之二都是很少量的, 因此 Affymetrix 新试剂盒需要的样品量减少对于我们特别有利。我们已经用了 3' IVT Express Kit, 发现它大大加速了我们处理样品的时间, 并得到高质量的结果。”

Affymetrix 总裁 Kevin King 表示: “Affymetrix 在全基因组 3' 表达芯片领域建立了行业标准, 数千份文献引用了这个技术。3' IVT Express Kit 价格更实惠, 可以使客户简化操作流程, 更快地发现并发表他们的结果。样品量减少向新的研究敞开了大门, 能使我们增加对复杂疾病尤其是癌症中基因表达方式的了解。”

更多关于 Affymetrix 3' IVT Express Kit

的信息, 请访问:

<http://www.affymetrix.com/genechip/ivtexpress.affx>。

关于 Affymetrix

Affymetrix 的基因芯片技术已经成为分析复杂遗传信息的标准工具。自八十年代晚期发明芯片技术以来, Affymetrix 的科学家一直致力于开发创新的产品, 使研究者能更全面地了解基因组。这些产品持续推进遗传研究, 帮助科学家通过鉴定和测量与复杂疾病相关的遗传信息, 开发出病人的诊断和个性化疗法。

今天, Affymetrix 的技术已经被全世界最尖端的药厂、诊断和生物技术公司, 以及领先的科研、政府和非营利研究所采用。全球仪器数量超过 1700 台, 有 13000 多篇论文引用了这项技术。

总部位于美国加州的 Affymetrix, 在加州、俄亥俄州和新加坡分别设有制造工厂。该公司全球员工约 1100 名, 在欧洲和亚洲均设有销售和配送业务。更多关于 Affymetrix 的信息, 请访问该公司网站 www.affymetrix.com。

(生物通 余亮)



实时定量 PCR: 了解影响 CT 的关键因素

影响 CT 值的因素

CT (阈值循环, Threshold Cycle) 是扩增曲线和阈值线的交叉点 (图 1B)。它是 PCR 反应中模板浓度的相对测量。除了模板浓度外,还有许多因素会影响 CT 的绝对值。我们将要讨论最常见的影响 CT 值的非模板依赖性因素,并描述如何评估实时定量 PCR 反应的效果。

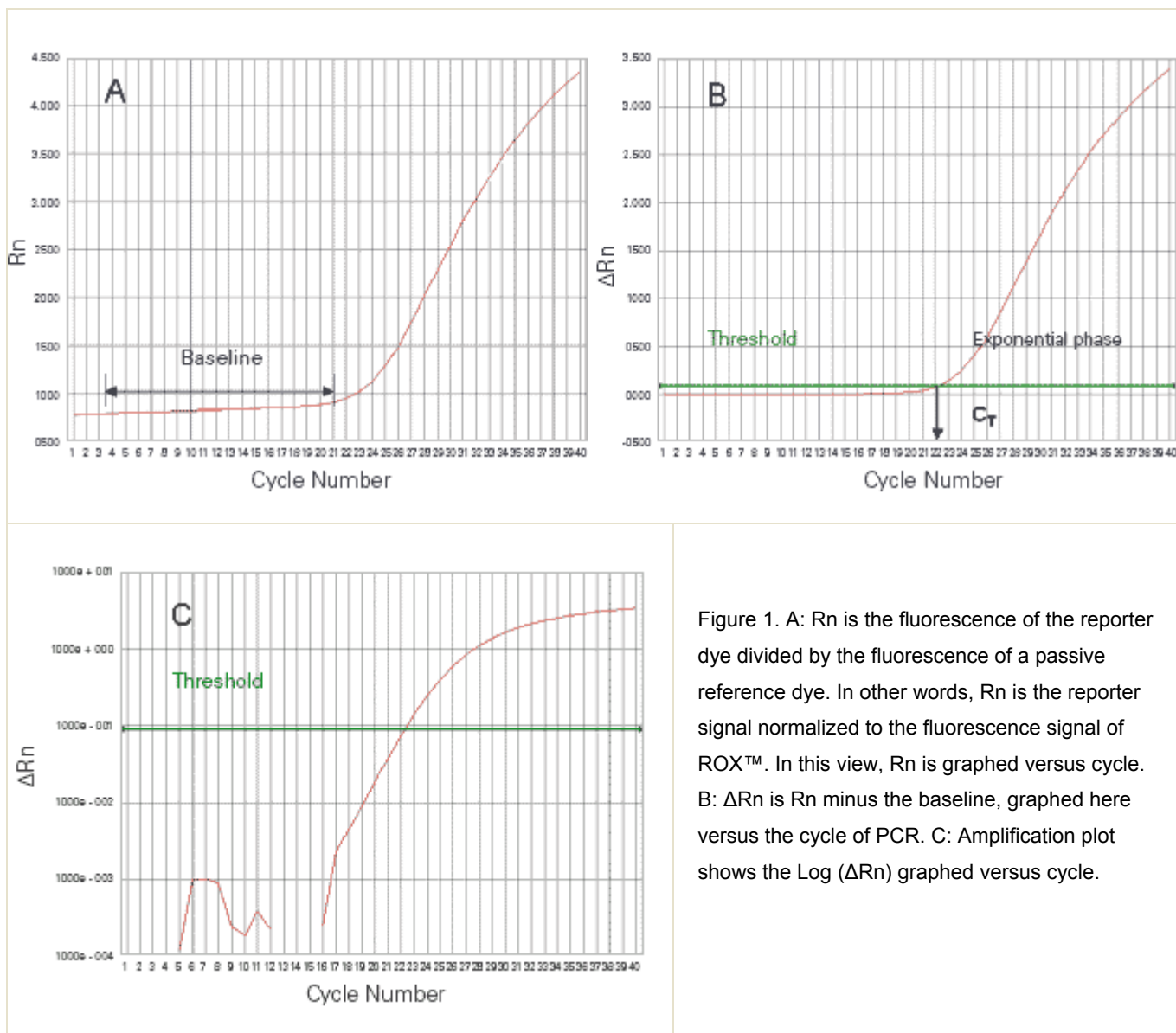


Figure 1. A: R_n is the fluorescence of the reporter dye divided by the fluorescence of a passive reference dye. In other words, R_n is the reporter signal normalized to the fluorescence signal of ROX™. In this view, R_n is graphed versus cycle. B: ΔR_n is R_n minus the baseline, graphed here versus the cycle of PCR. C: Amplification plot shows the $\text{Log}(\Delta R_n)$ graphed versus cycle.

图 1 显示了实时 PCR 反应扩增图的几个参数。图 1B 的对数期对应图 1C 的线性期。在图 1C 扩增图中, 阈值必须设在线性期中。当模板量减少时, CT 值随之增加。然而, 反应混合物或仪器中的任何改变, 只要能影响与

CT 值计算相关的荧光测定, 都会使 CT 值产生非模板依赖性的变化。因此, 在不同条件下或用不同试剂进行的 PCR 反应产生的 CT 值不可以直接进行比较。

反应液成分的影响

任何分子的荧光发射都受环境因素影响---比如溶液的 pH 值和盐浓度。图 2 显示了某个 Taqman 探针在两种不同的反应液背景

下的原始荧光数据。尽管两组反应的扩增目标、探针和 ROX（参比荧光）浓度都相同，反应液 A 中的荧光信号强度更强。

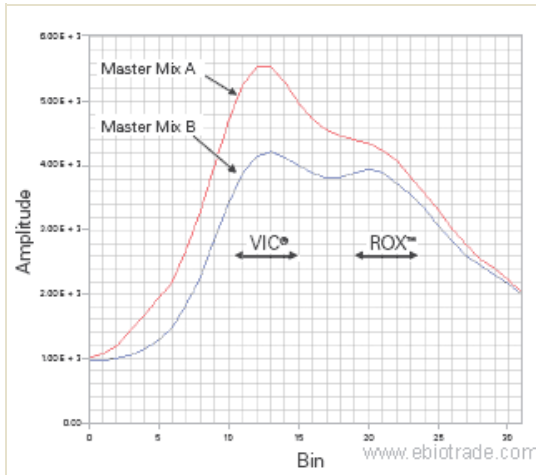


Figure 2. Raw fluorescence data obtained with one assay and two master mixes with the same ROX™ level. The difference in signal is due to the master mix composition. Reaction was performed on an Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System with a VIC® MGB probe. The X axis shows the emission wavelength of the fluorophore and the Y axis shows the intensity of the emission.

因此，如图 3 所示，产生的 ΔRn 值也不同。注意本底荧光信号基线属于非模板依赖的因素，两种反应液的基线是不同的。CT 值的

变化并没有反映出反应体系的总体效果（图 3B）。灵敏度相当的反应液产生的 CT 绝对值可能不同。

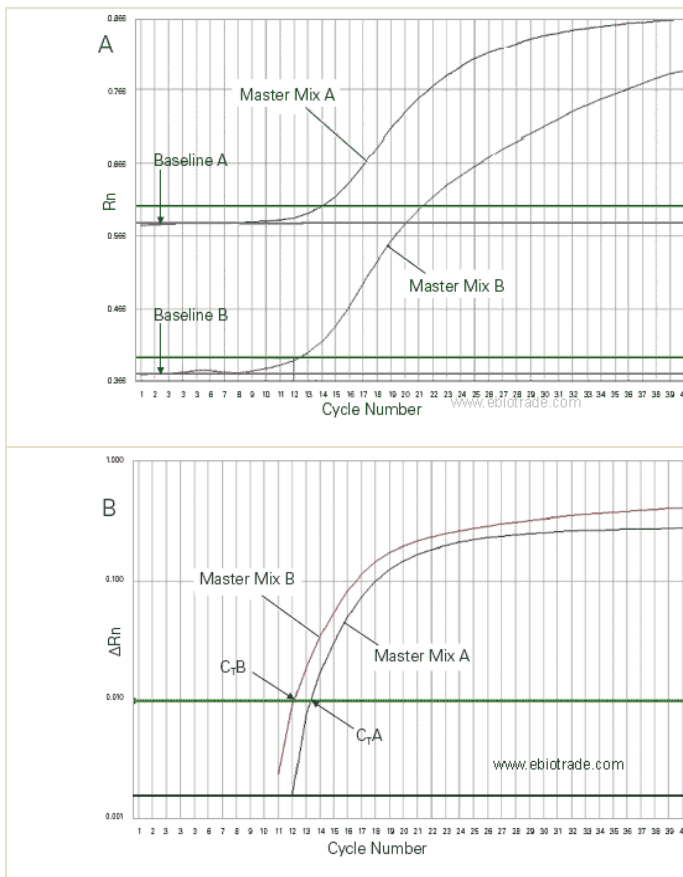


Figure 3. Master Mix A and Master Mix B were used to amplify RNase P in equal amounts of human gDNA using the Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System. Figure 3A shows the Rn versus cycle number and the baselines for both reactions. Figure 3B shows the Log ($\Delta\Delta Rn$) versus cycle number. The threshold (green) is set at the same level for both master mixes. The CT value of Master Mix B (CTB) is earlier than that of Master Mix A (CTA) for identical concentrations of target, reflecting the lower baseline of Master Mix B.

ROX 参比荧光

Rn 值是由 FAM 荧光除以 ROX 荧光而得到的比率。因此，假定 FAM 荧光信号保持不变，ROX 量越少，产生的 Rn 值就越高。这将导致 Rn 基线的上升，以及随后 ΔRn 的减小和 CT 值的变化。降低 ROX 水平而得到的

不同 CT 值，没有对反应的真实灵敏度产生任何影响，却有着意想不到的后果。如图 4 所示，降低 ROX 浓度将使 CT 值的标准偏差增加。标准偏差越大，分辨目标模板浓度间的微小区别的可信度就越低。

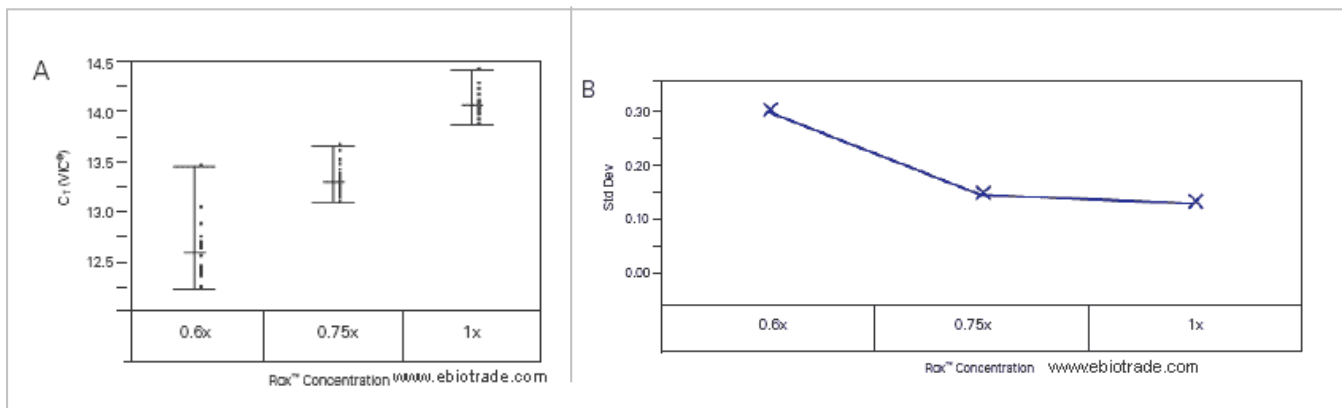


Figure 4. Master mixes containing 3 different concentrations of ROX™ were used to amplify the TGF beta assay on the Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System using the 96-well block. Figure 4A shows the CT value and Figure 4B shows the standard deviation with variable ROX concentrations. Decreasing ROX concentration gives an earlier CT but increases the standard deviation.

PCR 反应的效率

PCR 反应的效率也会影响 CT 值。在 PCR 扩增效率低的条件下进行连续梯度稀释扩增，与 PCR 扩增效率高的条件下相比，可能会产生斜率不同的标准曲线。在图 5 中，两个样品 (X 和 Y) 分别在低效率(78%)和高效率 (100%) 条件下扩增，目标模板浓度相

同的情况下得到了不同的 CT 值。在这个例子中，尽管高效率条件 (图 5 中的蓝色曲线) 在高浓度时产生的 CT 值更晚，但它在目标浓度低时却更为灵敏。PCR 效率取决于实验、反应混合液性能和样品质量。一般说来，反应效率在 90-110%之间都是可以接受的。

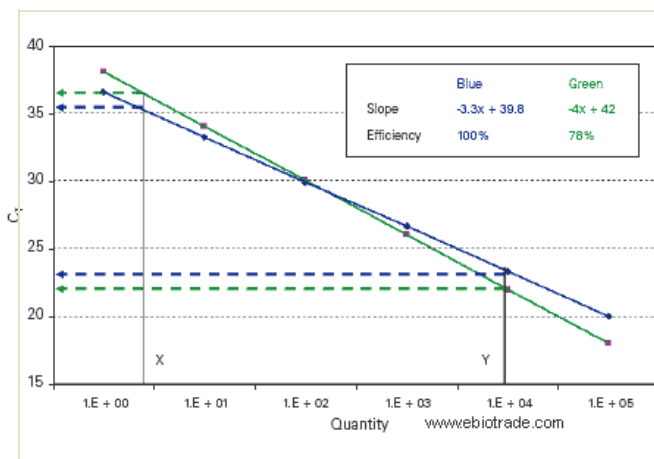


Figure 5. The blue standard curve has an efficiency of 100% (slope is -3.3). The green standard curve has an efficiency of 78% (slope is -4). Amplification of the Y quantity gives an earlier CT with low efficiency condition (green) compared to the high efficiency condition (blue). With a lower quantity (X) there is an inversion and the low efficiency condition (green) gives a later CT compared to the high efficiency condition (blue).

假如所有的实验条件如仪器、试剂和实验都是完全相同的，那么在观察到 A 样品的 CT 值高于 B 样品时，就可以下结论说 A 样品的模板量少于 B 样品。然而如果仪器、试剂、引物和探针或者反应体积不同的话，下这样的结论就不准确。因此，CT 绝对值的比较只有在上述实验条件完全相同的情况下才有意义。

如何评估实时定量 PCR 反应的效果

为了比较不同条件(例如两种不同的反应液或两台不同的仪器)下的两个反应，就必须评估以下参数。

动态范围

为了正确地评估 PCR 扩增效率，至少需要做 3 次平行重复,至少做 5 个数量级倍数(5 logs)连续梯度稀释模板浓度。图 6 说明了这

种建议的理由，它对比了模板浓度连续稀释 1 个数量级倍数(1 log)和 5 个数量级倍数(5 logs)这两种情况下，斜率 (PCR 效率)可能产生的数学偏差。因此，即使实验 100%有效，在按 1 个数量级倍数 (1 log) 梯度稀释时，由于每个稀释点的标准偏差而导致可能的偏移范围达到 70-170%之间。在按 5 个数量级倍数 (5 logs) 梯度稀释时，做同样数量的稀释点和平行重复，可能的偏移只有±8%。这意味着在 5 个数量级倍数 (5 logs) 梯度稀释的条件下如果 PCR 效率为 94%，那么 PCR 反应效率可能的偏移范围在 88%到 100%之间。为了准确判断 PCR 反应的效率，必须进行 5 个数量级倍数(5 logs)的连续稀释。-3.3±10%的斜率意味着 PCR 效率达到 100%±10%。PCR 反应效率越低，那么灵敏度也越低。

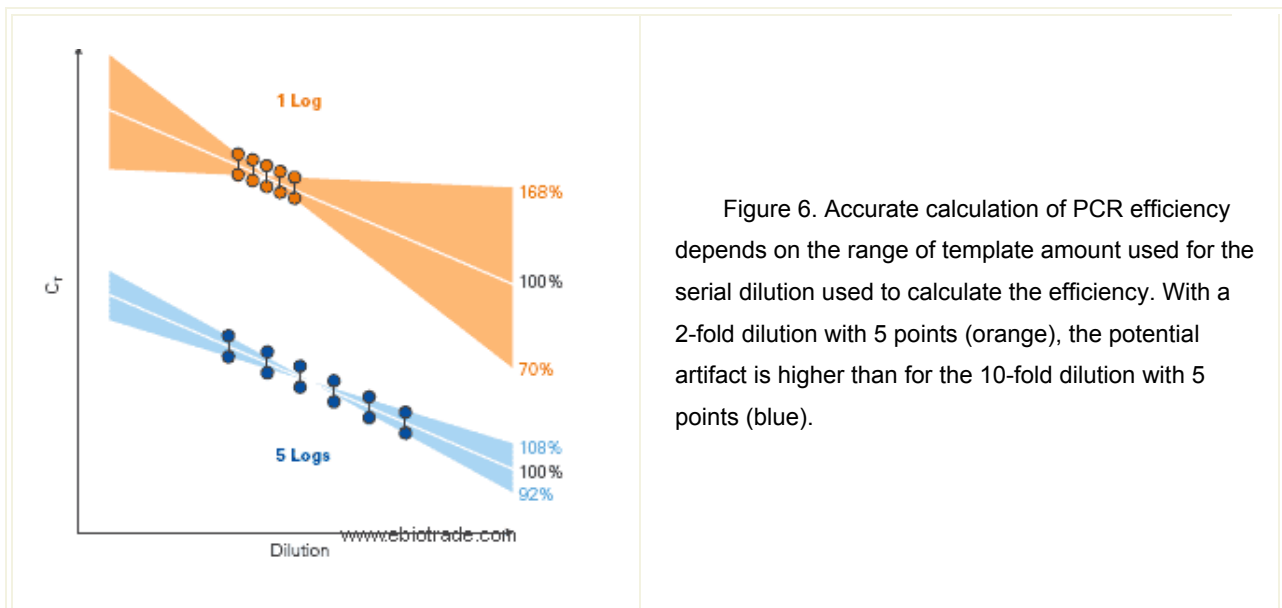


Figure 6. Accurate calculation of PCR efficiency depends on the range of template amount used for the serial dilution used to calculate the efficiency. With a 2-fold dilution with 5 points (orange), the potential artifact is higher than for the 10-fold dilution with 5 points (blue).

R²值

另一个评估PCR效率的关键参数是相关系数R²，它是说明两个数值之间相关程度的统计学术语。如果R²等于 1，那么你可以用

Y 值 (CT) 来准确预测 X 值 (量) (图 7A)。如果 R² 等于 0，你就不能通过 Y 值来预测 X 值 (图 7B)。R² 值大于 0.99 时，两个数值之间相关的可信度很好。

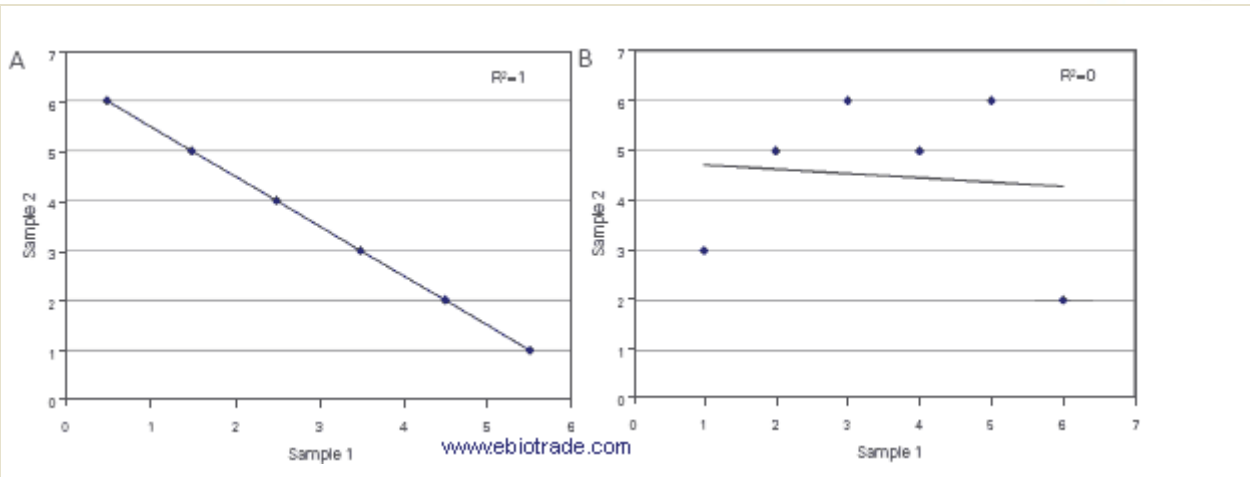


Figure 7. Example of R2 value calculated for 2 straight lines. A: There is a direct relation between x and y values. B: There is no relation between x and y values.

精确度

标准偏差 (standard deviation, 偏差的平方根) 是最常用的精确度计量方法。如果许多数据点都靠近平均值, 那么标准偏差就小; 如果许多数据点都远离平均值, 则标准偏差就大。

实际上, 足够多重复次数产生的数据组会

形成大致的正态分布。这经常可通过经典的中心极限理论来证明, 独立同分布随机变量在无限多时趋向于正态分布。如图 8A 所示, 约 68% 的数据在平均值的 1 个标准偏差之内, 约 95% 的数据落在平均值的 2 个标准偏差之内, 约有 99.7% 的数据落在平均值的 3 个标准偏差之内。

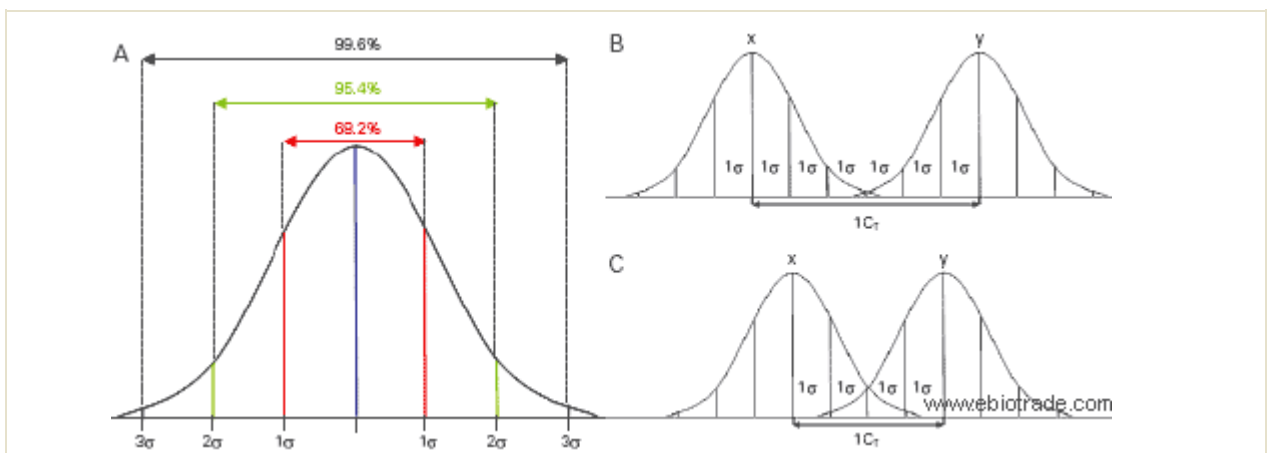


Figure 8. Normal distribution and standard deviation. (A) shows a normal distribution of data. If the PCR efficiency is 100% there is one CT between the mean of 2-fold dilution samples (sample X and sample Y). To be able to quantify both samples in 99.7% of cases, the standard deviation has to be less than 1 CT divided by 6 standard deviations ($1/6=0.167$), shown in (B). To be able to quantify both samples in 95% of the case, the standard deviation has to be less than 1 CT divided by 4 standard deviations ($1/4=0.25$), shown in (C).

如果 PCR 反应效率是 100%, 那么 2 倍稀释点之间的平均 CT 间隔应该恰为 1 个 CT 值 (图 8B)。要以 99.7% 的几率分辨 2 倍稀释浓度, 标准偏差就必须小于等于 0.167。标

准偏差越大, 分辨 2 倍稀释的能力就越低。为了能够在 95% 以上的情况下分辨出 2 倍稀释, 标准偏差必须小于等于 0.250 (图 8C)。

灵敏度

无论 CT 绝对值是多少,任何能够有效扩增和检测起始模板拷贝数为 1 的系统都达到了灵敏度的极限。

如上文所述,PCR 效率是决定反应灵敏度的关键因素(图 5)。在检测极低拷贝数时的另一个重要的考虑因素是,低拷贝时的模

板数量不能按普通情况来预期。相反,它会遵循泊松分布,即进行大量的平行重复,平均应该含有一个拷贝的起始模板,实际上约 37% 不含有拷贝,仅有约 37% 含有 1 个拷贝,约 18% 实际上含有两个拷贝(图 9)。因此,为了更可靠地检测低拷贝,必须做大量的平行重复实验来提供统计显著性,并克服泊松分布的限制。

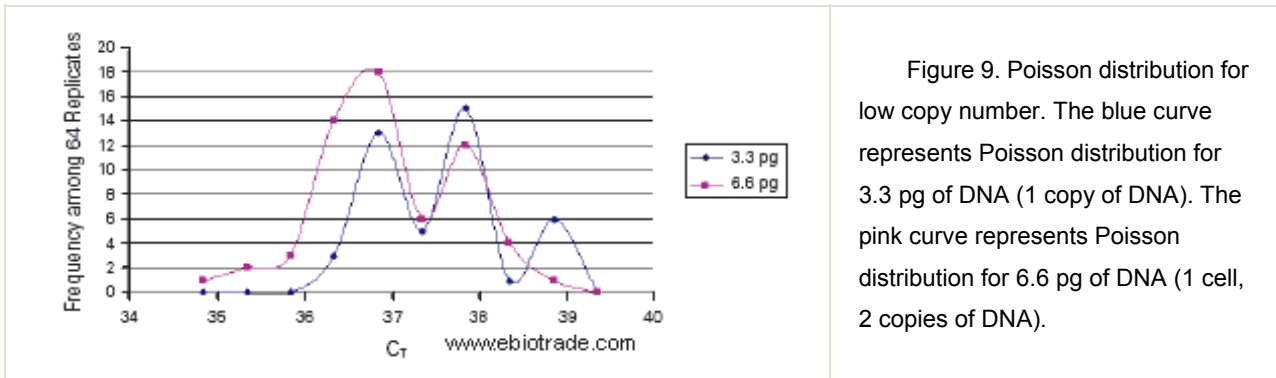


Figure 9. Poisson distribution for low copy number. The blue curve represents Poisson distribution for 3.3 pg of DNA (1 copy of DNA). The pink curve represents Poisson distribution for 6.6 pg of DNA (1 cell, 2 copies of DNA).

结论

当比较不同反应条件下的 PCR 反应时,需要用效率、R2、精确度、灵敏度这些因素来评估 PCR 反应。为了精确严谨地评估,表 1 中所列的所有因素都必须评估。

TABLE 1. 评价荧光 PCR 结果的标准

因素	建议	指标
效率	5 个数量级梯度 稀释	Slope ~ -3.3
		R2 > 0.99
精密度	至少 3 个重复	标准差 < 0.167
灵敏度	增加低浓度样 本的重复数	统计分析

除了这些因素,还必须评估和验证合适的实验对照(如无模板对照,无反转录酶对照等)以及模板质量。

附录

扩增图

扩增图是荧光信号对循环数的坐标图。反应以循环中首次检测到 PCR 产物扩增的时间

点为特征。核酸目标的起始拷贝数越高,就越快观察到荧光的显著增加。

基线

在 PCR 的最初几个循环中,荧光信号是几乎不变的。这确定了扩增图中的基线。在这些初始的循环中,我们看到的其实是反应的荧光背景。通过设定基线以从读数结果中扣除荧光背景。(关于如何设定基线,请从 ABI 公司的网站 www.appliedbiosystems.com 上下载“Applied Biosystems 7300/7500 Real-Time PCR System”文件。)

ΔRn

ΔRn 是 Rn 扣除基线后得到的标准化结果 ($\Delta Rn = Rn - \text{基线}$)。

参比荧光

一种用于提供内部荧光参照的荧光染料,荧光报告基团信号在数据分析时参照它来进行标准化。必须使用标准化来校正由浓度、体积或样品变化引起的荧光波动。

PCR 效率

下面的方程式描述了 PCR 的指数扩增。

$$C_n = C_i * (1 + E)^n$$

C_i = 起始拷贝数

C_n = 在 n 个循环的拷贝数

n = 循环数

E = 目标扩增效率

如果效率最大 ($=1$)，这个方程式就变成： $C_n = C_i * 2^n$ ，它意味着每一个循环的扩增倍数是 2。如果效率降低，每个循环产生 PCR 产物的数量也降低，扩增图将会延滞。推荐的效率是介于 90-110% 之间。

荧光报告基团染料 (Reporter Dye) 是指偶联在 TaqMan 探针 5' 端的荧光基团。这个荧光基团提供的荧光信号可反应特异扩增的情况。如果使用可与双链 DNA 结合的 SYBR

Green I，此时荧光信号的增加也同样可以指示扩增情况。特异性可以通过熔解曲线来分析 ((Power SYBR® Green PCR Master Mix and RT-PCR Protocol, P/N 4367218))，或对 PCR 产物进行凝胶分析。

Rn (Normalized reporter) 是荧光报告基团的荧光发射强度与参比染料的荧光发射强度的比值。

阈值 用于确定实时定量分析中的 CT 值的某个 ΔRn 水平。这个水平设定得比基线高，又在扩增曲线的指数增长区域内足够低。阈值是与扩增图相交确定 CT 值(阈值循环)的线。关于如何设定阈值，请从 ABI 公司的网站 www.appliedbiosystems.com 上下载 “Applied Biosystems 7300/7500 Real-Time PCR System”。

阈值循环 (CT) 荧光穿过阈值时的循环数。(ABI 供稿 生物通 译)

赛默飞世尔科技推出的 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜 可获得超快速可靠的混合物分析



Madison, WI., (2008 年 8 月 19 日) ——作为服务科学领域的全球领导者，赛默飞世尔科技宣布，其最新推出的 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜能使分析工作者在显微尺度下于复杂结构和随机混合物中快速鉴定各种化学物质及其分布。专为超快速数据获取而设计的全新 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜，能提供快速准确的材料分析，从法庭科学直至高科技的聚合物材料。

与 OMNIC Picta 软件配套使用的 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜提供全新的用户体验，只需鼠标点击几次，即可引导操作者完成从样品装载到最终报告的整个分析过程。此系统的高度整合设计将机器视觉和光谱鉴定技术有机的结合起来，极大地方便了数据获取和样品分析。

高效的光学效率使得系统可获得高散射能力样品的化学图像，比如纸张和固体制剂，从而使得 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜成为伪造检测强有力的工具。

为获取最佳的数据，此系统最多可装备三个检测器。一个室温检测器无需液氮即可进行“对准就拍”式分析，与高效的插入式 ATR 物镜配合使用，使得 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜像常规的红外分光光度计一样快捷易用。为提高检测灵敏度并获得最小样品的数据，可使用单元素 MCT 检测器。作为可选配件的阵列检测器使得此红外成像显微镜以更快的数据采集速度来获得大尺寸图像，分析 5mm×5mm 样品只需 5 分钟。另外，系统的 Micro-ATR 所获图像的空间分辨率优于 3 微米。

由于难以通过认证，红外显微镜在管制环境中的应用一直受到限制。只有 Nicolet iN10

MX 红外成像显微镜可在反射，透射和 ATR 测试模式下进行验证，因此简化了仪器的认证过程。这为红外显微镜在高度管制环境中的应用创造了良好的机会。

想要了解更多赛默科技 Nicolet iN10 MX 红外成像显微镜的详细信息，请拨打电话 800-810-5118, 400-650-5118, E-mail 至 analyze.cn@thermofisher.com 或登录 www.thermo.com/FT-IR。



Thermo Scientific 是服务科学领域全球领导者赛默飞世尔科技的一部分。

关于赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific)

Thermo Fisher Scientific(赛默飞世尔科技) (纽约证交所代码: TMO) 是全球科学服务领域的领导者, 致力于帮助客户使世界更健康、更清洁、更安全。公司年销售额超过 100 亿美元, 拥有员工约 33,000 人, 在全球范围

内服务超过 350,000 家客户。主要客户类型包括：医药和生物公司，医院和临床诊断实验室，大学、科研院所和政府机构，以及环境与工业过程控制装备制造制造商等。公司借助于 Thermo Scientific 和 Fisher Scientific 这两个主要的品牌，帮助客户解决在分析化学领域从常规的测试到复杂的研发项目中所遇到的各种挑战。Thermo Scientific 能够为客户提供一整套包括高端分析仪器、实验室装备、软件、

服务、耗材和试剂在内的实验室综合解决方案。Fisher Scientific 为卫生保健，科学研究，以及安全和教育领域的客户提供一系列的实验室装备、化学药品以及其他用品和服务。赛默飞世尔科技将努力为客户提供最为便捷的采购方案，为科研的飞速发展不断地改进工艺技术，提升客户价值，帮助股东提高收益，为员工创造良好的发展空间。欲获取更多信息，请浏览公司的网站：www.thermo.com.cn

Sigma-Aldrich 也涨价了！



继默克 8 月底宣布将上调部分化学品的价格后，Sigma-Aldrich 公司也宣布，由于通货膨胀日益严重，原料和运输成本不断增加，9 月 1 日起部分产品的价格也将会上调。

以下是 Sigma-Aldrich 在其网站发布的通告。

尊敬的客户：

从 2008 年 9 月 1 日起，Sigma-Aldrich 将上调其部分产品的价格。

众所周知，Sigma-Aldrich 所提供的高质量产品和服务依赖于优质的原料供应和一流的物流网络。鉴于目前严重的通货膨胀环境及日益增长的原料和运输成本，为了保证我们的服务和产品质量，Sigma-Aldrich 宣布将从 2008 年 9 月 1 日起上调部分产品价格。我们真挚地感谢您对我们业务的一贯支持并希望您能继续支持我们的业务。

欢迎访问我们的网站(<http://www.sigma-aldrich.com>)或拨打免费订购热线 800-819-3336 或Email至 OrderCN@sial.com，查询最新价格。

此致

敬礼！

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Gerrit van den Dool".

Gerrit van den Dool
Vice-President - Sales

Alpha Innotech 和 GE 宣布战略联盟关系



Alpha Innotech 公司近日宣布已经与通用电气医疗集团（GE Healthcare）签订了五年期的战略供应商联盟协议。这项协议是 2005 年 4 月两家公司签订的 OEM 协议的延伸及扩展。

根据协议的条款，Alpha Innotech 将继续开发、制造和供应一整套特有的成像仪器给 GE Healthcare。这些产品将以 GE 的品牌在全世界生命科学研究和药物开发市场上出售。

Alpha Innotech 公司市场及业务拓展部副总裁 Sia Ghazvini 表示：“在过去的三年里，我们与 GE Healthcare 建立了十分密切的关系，很高兴我们的合作会扩展到生命科学的成像领域。GE Healthcare 的技术遍布全世界的生物应用领域，再加上 Alpha Innotech 在成像技术的专业技能，我们将为研究者提供综合全面的产品。”

GE Healthcare 公司的采购经理 Ron Alves 表示：“我们也很高兴能与 Alpha Innotech 延伸合作关系，并与他们协作提供尖端的成像系统并开发出新一代的产品。我们两家公司的合作扩展了我们的成像产品线，并为研究者提供了更广泛的选择。”

关于 Alpha Innotech 公司

成立于 1992 年的 Alpha Innotech 公司，是开发、制造和销售电子成像和分析系统的领先者，已有在生命科学研究和药物开发市场上出售了超过 1 万台产品。我们的目标是结合仪器、试剂和生物信息学软件，为功能基因组

学、蛋白质组学和细胞分析提供综合的技术平台。我们的客户包括全球的制药及生物科技公司，以及大学、医院和政府研究机构。有关 Alpha Innotech 的更多信息，请访问：

www.alphainnotech.com。

关于 GE Healthcare

通用电气医疗集团提供的革命性医疗技术和服务为患者护理开辟了一个新时代。该公司在医疗显像和信息技术、医疗诊断、患者监护系统、性能改善、药物开发和生物制药生产技术方面的技能正在帮助全球的医生重新考虑预测、诊断、告知、治疗和监测疾病的新方式，这样他们的病人可以充分地享受生命。

通用电气医疗集团丰富的产品和服务使医疗保健供应商能更好、更早地诊断和治疗癌症、心脏病、神经疾病及其他疾病。该公司未来的目标是实现专注于早期诊断、发病前检测和疾病预防的新的关怀“早安心”模式。通用电气医疗集团总部位于英国，是通用电气公司（纽约证券交易所代码：GE）旗下部门，资产达 170 亿美元。该集团在全球拥有 46000 名员工，致力于为 100 多个国家的医疗保健专家及其病人提供服务。有关通用电气医疗集团的更多信息，请访问

<http://www.gehealthcare.com>。

Millipore 联手安捷伦开发 ChIP 试剂盒



Millipore 公司与安捷伦公司近日宣布，他们将合作开发创新的 ChIP（染色质免疫沉淀）试剂盒，以满足快速增长的表观遗传学研究市场。这些试剂盒将改善蛋白质研究者的工作效率，并简化他们研究遗传信息的方法。

ChIP 是一种协助研究者了解 DNA 和蛋白质的相互关系对基因调节方面的影响的技术。这次合作将结合 Millipore 在抗体、ChIP 试剂盒和试剂方面的优势，以及安捷伦在芯片、数据分析上的领先地位。

Millipore 公司生命科学策略经营部门的副总裁 Geoffrey Crouse 表示：“这次两个行业领头羊的合作，将改善表观遗传学研究者的研究流程。我们在 ChIP 市场的悠久历史，再加上安捷伦在 DNA 芯片上的领先水平，将帮助科学家推进表观遗传学的研究领域。我们期待能帮助研究者越过染色质状态图谱的障碍，直接获得重复性的基因组图谱数据，克服传统 ChIP 分析的难题。”

安捷伦公司基因组学的副总裁和总经理 Yvonne Linney 博士表示：“我们很高兴能与 Millipore 合作，为研究 DNA-蛋白的相互作用和结合提供了一种端对端的解决方案。”

Millipore 为表观遗传学和染色质重建研究提供了 ChIP 试剂盒和试剂。它的免疫学相关试剂超过 1300 种，协助研究者们了解多种表观遗传学机理，如组蛋白修饰、染色质重建、转录因子对基因的调节、DNA 甲基化和调节 RNA 等。

安捷伦始创了 ChIP-on-chip 技术，在 2005 年首次在 ChIP 分析中引入芯片方案。

关于 Millipore

Millipore (纽约证券交易所代码: MIL)是一个为生命科学研究和生物药品制造提供最先进的技术、工具和服务的供应商。作为战略伙伴，我们与客户合作迎接人类健康问题的挑战。从研究到开发到生产，我们的专业知识和创新解决方案能帮助客户解决最复杂的问题，达成他们的目标。Millipore 公司是 S&P 500 公司之一，在全世界的 47 个国家拥有超过 6000 名雇员。更多关于 Millipore 公司的信息请访问：www.millipore.com。

关于安捷伦

安捷伦科技公司（纽约证券交易所代码: A）是世界上最好的测量公司，也是通信、电子、生命科学和化学分析领域的领先者。该公司总部设在美国加利福尼亚州，拥有 19000 名员工，为 110 多个国家的客户提供服务。安捷伦在 2007 财年的净营业收入达 54 亿美元。更多关于安捷伦的信息，请访问：www.agilent.com。（生物通 余亮）