

EBIOTECH

生物通技术周刊

第41期

2008年9月25日

[技术前沿]

如何提取小小的miRNA?

专家指南: miRNA分析中的qRT-PCR疑难解答

高通量快速检测三聚氰胺的方法

[新品速递]

QIAGEN三款基因分型试剂盒新上市

Roche最新推出多重基因表达芯片

赛默飞世尔科技让样品测定更快、更简单

RAININ瑞宁Pipet-One手动移液器火热登场

[应用指南]

His融合蛋白纯化中常见问题解答集锦

蛋白质组学解决方案在高端心血管研究中的应用

美国国家食品安全与技术中心选择Thermo Scientific质谱检测三聚氰胺

[行业动态]

开学大促 近期十款降幅最大产品

Invitrogen将扩增专利授权给QIAGEN等

美国BD公司扩建碧迪中国苏州工厂

康宁宣布与 HighRes 生物解决方案公司签订商业协议

主办:  生物通
www.ebiotrade.com

一、技术前沿:

如何提取小小的miRNA?

专家指南: miRNA分析中的qRT-PCR疑难解答

高通量快速检测三聚氰胺的方法

二、新品速递

QIAGEN三款基因分型试剂盒新上市

Roche最新推出多重基因表达芯片

赛默飞世尔科技让样品测定更快、更简单

RAININ瑞宁Pipet-One手动移液器火热登场

三、应用指南

His融合蛋白纯化中常见问题解答集锦

蛋白质组学解决方案在高端心血管研究中的应用

美国国家食品安全与技术中心选择

Thermo Scientific质谱检测三聚氰胺

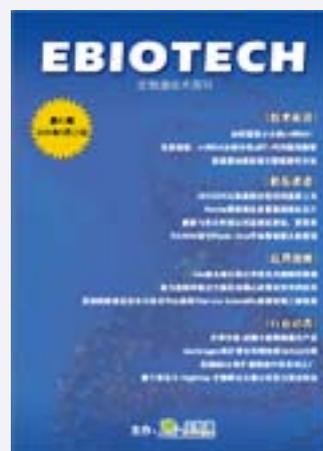
四、行业动态

开学大促 近期十款降幅最大产品

Invitrogen将扩增专利授权给QIAGEN等

美国BD公司扩建碧迪中国苏州工厂

康宁宣布与 HighRes 生物解决方案公司签订商业协议



[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

如何提取小小的 miRNA?



近年来，microRNA (miRNA) 成了生命科学和医学研究中的明星。这种 22 个核苷酸的小分子在基因表达调控中起着至关重要的作用，它似乎掌控着多把开启科学之门的钥匙，例如发育、分化和凋亡。而它又与多种癌症和疾病息息相关。正因为它是如此重要，大家都迫不及待地想把它看清楚。miRNA 相关的技术和工具也越来越多，生物通就先来谈谈其中最基本的工具——miRNA 的提取。

无论是芯片分析，还是 miRNA 的克隆，miRNA 的提取都是最基础的步骤。以往传统的 RNA 提取试剂盒都是为了回收 mRNA 而设计的，往往会弃去较小的 RNA 分子以提高 mRNA 得率，而这些步骤会导致 miRNA 的损失。多数 RNA 纯化试剂盒采用标准的玻璃纤维滤膜或者硅胶滤膜，不能有效地回收小分子 RNA。不过，为了顺应市场的需求，各大公司纷纷推出 miRNA 提取产品。

不同的样本有不同的试剂盒相对应。细胞、组织这种最常见的样本当然有多种试剂盒可用，不过血液、FFPE 样本也不用担心。生物通来为你一一介绍。

Ambion 的 mirVana miRNA Isolation Kit 是最早上市的 miRNA 提取试剂盒，也是应用最广的，查阅 miRNA 的相关文献，很多都用了 Ambion 的这个 kit。它采用改良的玻璃纤维滤膜方法来快速回收细胞或者组织样本中全部 RNA，包括 miRNA。样品量为 10^2 - 10^7 个细胞，或者 0.5-250mg 组织。首先用变性裂解液裂解样品，让 RNase 失活，使 RNA 稳定。裂解液随后用酸-酚：氯仿来萃取，去除大部分细胞成分，留下半纯的 RNA 样品。然后再通过玻璃纤维滤膜来进行纯化，不过在最后一步之前，你要做一个选择，是纯化总 RNA 呢，

还是只纯化小分子 RNA。如果你想要用芯片做 miRNA 表达图谱研究，我们还是建议你先纯化总 RNA，再用胶纯化富集 miRNA，这样做似乎麻烦了一些，但它能准确地定量 RNA，并评估它的质量，来确认是否能用于芯片分析。纯化总 RNA 的步骤就与一般的 RNA 纯化类似。而纯化小分子 RNA 则多了一步：先用 25% 的乙醇将大的 RNA 固定住，小分子 RNA 以滤出液形式收集，然后将乙醇浓度提高到 55%，把小分子 RNA 固定住，最后是洗涤和洗脱，就可以富集 200nt 以内的 RNA 片段。它的价格是 3630 元，能纯化约 40 次，单次价格在 90 元。

核酸提取一贯是 QIAGEN 公司的绝活，对于 miRNA 这样的小分子，QIAGEN 自有妙招。它推出了 miRNeasy Mini Kit，能从多种动物组织和细胞中纯化 miRNA 和总 RNA。这个 kit 也是结合了基于酚/胍的样品裂解和经典的硅胶膜离心柱，配上优化好的各种 buffer，只要 RNA 大于 18nt，就能照单全收。最大样品体积为 10^7 个细胞，或 50mg 组织（脂肪组织可以达到 100mg）。这个 kit 的价格就相对更平易近人了，50 次的目录价为 3130 元，每一次只需要 62.6 元，要是碰上打折促销，那就更美了。不过如果你只想要 miRNA，还需要另一个 RNeasy MinElute Cleanup Kit 来

协助。miRNeasy Mini Kit 适于样品不太多的情况下分析，如果你做高通量分析，则 miRNeasy 96 Kit 更合适。

分子生物学的老大哥Invitrogen公司自然也不甘落后，在miRNA方面推出了一系列产品。除了大家熟悉的Ncode miRNA芯片外，还有PureLink miRNA Isolation Kit。这个试剂盒的原理与Ambion的有些类似，都是样品裂解后，在低乙醇浓度下将小分子RNA洗脱，然后将乙醇浓度提高，小分子RNA固定在硅胶膜上。不过它的样品量比较小，细胞不得超过 10^6 个，组织最多 5mg，这样看来价格就有些小贵了，2592 元/ 25 次。如果你想要的是包含miRNA的总RNA，来方便评估RNA的质量，还是用最经典的TRIZOL吧。它可以抽提所有RNA，价格也相当实惠，1050 元/ 100ml，真可谓物美价又廉，难怪很多文献中还是提到了它。

以化学品起家的Sigma-Aldrich这几年也开始在分子生物学上发力了，去年底推出了mirPremier microRNA Isolation Kit，它是采用一种新颖的方法来提取小分子RNA的，不需要用酚和氯仿，更加安全，而且速度很快，只需要 30 分钟，就能得到多达 20ng 的小分子RNA，用于 RT-PCR 或 Northern blot。哺乳动物细胞、动物组织、植物组织和微生物培养物都可以用这个 kit 来提取 miRNA，价格也相对便宜，50 次的只需要 3024.45 元。当然，它也可以用来提取总 RNA。

上面说的这些试剂盒都是适用于普通的细胞或组织，如果你的样品是甲醛固定石蜡包埋（FFPE）的组织呢，也不用发愁，还是可以有很多的选择的。

Roche 的 High Pure miRNA Isolation Kit

就是一个多面手，它不仅能从细胞、动植物组织中提取 miRNA，还能从 FFPE 样品中提取。它适用的 FFPE 样品大小为 5-10um

（1cm×1cm），先用二甲苯脱蜡，乙醇洗涤之后再用裂解液、SDS 和蛋白酶 K 处理，后面的流程就与普通的组织一样了。除去脱蜡和蛋白酶 K 这些比较繁琐耗时的步骤之外，其他步骤只需要 30 分钟，不过提取效率可是与蛋白酶 K 的消化步骤密不可分哦，千万不要急于求成，草草消化了是。此 kit 的价格为 3982 元（50 次），单次售价 79.64 元。考虑到它的应用范围更广，内含的试剂也多了两种，应该还算合理吧。

QIAGEN 的 miRNeasy 提取试剂盒也有 FFPE 的版本。miRNeasy FFPE Kit 用了一个全新的方法来去除 RNA 与甲醛的交联，使下游应用中 RNA 的表现更好。另外，它还引进了独特的 gDNA 去除柱，无需 DNase 消化即可去除基因组 DNA 的污染。价格嘛，当然比 miRNeasy Mini Kit 贵一些，3650 元/ 50 次。Ambion 也新推出了专利的 RecoverAll Total Nucleic Acid Isolation Kit，专门是为提取 FFPE 样品中的 DNA 和 RNA 而设计的，提取的核酸中包括了样品中全部的 miRNA，配合 flashPAGE Fractionator 系统和 mirVana miRNA Array 可用于 miRNA 表达图谱分析。RecoverAll 这个试剂盒本来的价格挺贵，40 次价格为 3927 元，但现在正好赶上 ABI 和吉泰联手搞促销，买一送一，那就非常划算了。

假如你的样品是血液，上面这些试剂盒似乎都不太合适，没关系，下面将有三个候选 kit 闪亮登场。第一位大家都不陌生了，就是 TRIZOL LS（Invitrogen）。它可谓是 TRIZOL 的同胞兄弟了，其实大家本质都是一样的，唯一不同的只是其中成分的浓度，TRIZOL LS 更

浓一些，所以更适用于液体样品。TRIzol LS 可以取代 TRIzol 用于固体样品，不过一定要稀释。反之，TRIzol 则不能替代 TRIzol LS，那只会导致产率下降。

第二位则是 Ambion 公司选送的 LeukoLOCK Total RNA Isolation System。它是专为人血优化设计的，采用了创新的过滤柱来分离白细胞，可免去离心之苦，一次可处理 9-10ml 血液。然后再加入其中的 RNAlater，能保护分离的白细胞 RNA 不被降解，室温时可以放置三天，低温下则可以保存几个月。之后你可以通过内含的磁珠来提取 RNA，不过如果你要做 miRNA 分析，Ambion 还提供了一个替代方法，将 LeukoLOCK 分离柱与 TRI Reagent 结合使用，就能得到包含小分子 RNA 的总 RNA，而且 RNA 的质量和纯度保持不变，产量则显著提高了~50%-100%。

最后一个还是 Ambion 公司的，谁叫人家是 RNA Company 呢，RNA 方面本来就是它的强项。RiboPure-Blood Kit 适于加了抗凝血剂的全血，不超过 0.5ml。对于 miRNA 分析的使用者来说，提取步骤和标准的 protocol 有一点区别，Ambion 稍稍做了改动，以便更好地提取小分子 RNA。不过这个 kit 也是针对人血的，如果你的样品是小鼠或大鼠，你可以选 Mouse RiboPure-Blood RNA Isolation Kit。它们都含有 RNAlater 稳定剂。

有时只是分析 miRNA 的表达谱还不够，你还想了解 miRNA、mRNA 和蛋白水平的关联性，可是，样品本来就并不多，怎么办呢？现在不用一分为二了，有一个 2 合 1 的试剂盒，mirVana PARIS Kit，不要误解了，这个

PARIS 跟巴黎可没什么关系，它代表 Protein And RNA Isolation System。它能同时提取样品中的天然蛋白和所有的 RNA，包括小分子 RNA，如 miRNA、snRNA 和 snoRNA。这个 kit 用了一种特殊的细胞裂解 buffer，裂解之后蛋白保持完整，能直接用于双向电泳、Western Blot 或酶分析。而剩余的裂解液就继续用于提取 RNA，得到的 RNA 可用于 RT-PCR、杂交或芯片分析。一次实验就得到了所有想要的组分，真是两全其美。

提取完 RNA 之后，当然还要看看 RNA 的量有多少，纯度如何。测 OD260、280 是最常用的方法，不过准确性不太高。文献中最常用的还是 Agilent 2100 Bioanalyzer。微量、快速和自动化是 2100 生物分析仪最主要的特点。核酸样品只需要 1ul，蛋白质和细胞样品也只需要 4ul 和 10ul，节省了宝贵的样品；5 分钟内可完成样品上样，30 分钟完成整个芯片的样品分离和数据分析，快速简便；自动化分析，只需手工上样，无需更多操作。不过最吸引用户的还是 RIN —RNA Integrity number，这是安捷伦特有的专利保护 RNA 完整性指数，全面考虑各种 RNA 的因素，经专利函数计算而得。全球 82% 的芯片领域用户将其作为 RNA 质控标准，可以说是全球公认的 RNA 质控金标准，难怪这么多人信任它。

miRNA 提取试剂盒这个看似简单的东西，其中也有不少讲究。希望这篇文章能帮你选择到最适合的产品。更多 miRNA 相关的文章，敬请期待！

（生物通 余亮）

专家指南：

miRNA 分析中的 qRT-PCR 疑难解答

实践出真知。我们的实验中往往会遇到一些很细节的问题，但在普通的教科书上又找不到现成的答案。怎么办？寻找身边的实验达人。可是在 miRNA 这个相对较新的领域，达人还不太多。生物通就帮大家找了一班实验达人，就 miRNA 分析中的 qRT-PCR 检测的 6 个热门问题，谈谈自己的经验。希望大家可以从中受到一点启发。

Q1: 如何为 miRNA 设计引物？利用茎环结构还是引物延伸？

Q2: 如何确定 Ct 值？理想的 Ct 值是多少？

Q3: 如何检测 miRNA？使用 SYBR green 吗？

Q4: 你如何确定检测效率？怎样称之为好的效率？

Q5: 如何区分前体和成熟的 miRNA？

Q6: 还需要其他的定量分析来进行补充吗？

Q1: 如何为 miRNA 设计引物？利用茎环结构还是引物延伸？

John Rasko & Stephane Flamant 美国 centenary 大学的基因和干细胞治疗计划
我们的方法是基于经典的小分子 RNA 克隆。从总 RNA 入手，在 microRNA 的 3'端加上一个接头。然后利用接头特异的引物来进行反转录（引物延伸法）。接着还是利用同样的引物，连同 5'microRNA 特异的引物，来进行定量 PCR 反应。由于 microRNA 的确很小，引物的选择余地也不大。我们通常设计的引物覆盖最初 15-17 个核苷酸，留下最后 6 个核苷酸用于测序验证。

Thomas Schmittgen 俄亥俄州立大学副教授

我们只利用 ABI 的 TagMan assay（茎环结构）来检测成熟的 microRNA。这些 assays 是预先设计并验证过的。

Frank Slack, Phong Trang, & Joanna Weidhaas 耶鲁大学医学院

我们应用的是 TaqMan assays。由于 microRNA 很短，采取茎环结构的引物会更好。

M.azim Surani & Fuchou Tang 剑桥大学 Gurdon Institute

我们也是应用茎环结构的引物来定量 microRNA。对于每一个 microRNA，我们设计了三条引物：一条反向引物用于反转录，一条正向引物，还有一条通用的反向引物，同时用于 pre-PCR 扩增步骤和实时定量 PCR 步骤。特异的反向引物约 42-44 个核苷酸，其 5'端的 36 个核苷酸序列是固定的，形成一个 8 核苷酸环和 20 核苷酸茎的结构，其 3'端的 6-8 个核苷酸就与 microRNA 互补。正向引物长约 25-32 个核苷酸，在 3'端有 11-18 个核苷酸与相应的 microRNA 互补，而剩余 14 个核苷酸的 Tm 值高于 65 摄氏度。通用的反向引物为 23nt，其中 18 个核苷酸对应特异反向引物的茎环结构部分，而 5'端的 5 个核苷酸的 Tm 值高于 65 摄氏度。

Wei Yan 美国内华达州大学医学院



我们的 microRNA PCR 方法是将小分子 RNA 的 cDNA (srcDNA) 作为模板。srcDNA 由 microRNA 聚腺苷酸后, 用 RTQ 引物反转录产生。RTQ 引物在 5'端包含一个 100bp 的接头序列, 然后是 25 oligo dT, 以及两个简并核苷酸 V (A、G 或 C) 和 N (A、G、C 和 T)。特定 microRNA 产生的 srcDNA 水平可由 PCR 进行分析, 用 microRNA 特定的引物作为正向引物, 对应 srcDNA 3'端接头序列的通用引物作为反向引物。整个 microRNA 序列除了最后的 2 个核苷酸都可以用作正向引物, 而反向引物可以根据 Tm 值和 GC 含量从接头序列中选择。

Q2: 如何确定 Ct 值? 理想的 Ct 值是多少?

John Rasko & Stephane Flamant

循环阈值是由扩增指数期的中部来决定的, 大约是在 25-35 个循环之间, 取决于样品和目的 microRNA。每一个反应进行三次, 同时还有一个阴性的反转录对照。对于每一个检测的样品, 我们都用广泛表达的 microRNA, 如 let-7a 或 miR-21, 作为阳性内参。

Thomas Schmittgen

我们应用的是 ABI 7900 定量 PCR 仪。通常我们利用软件的默认参数来计算 Ct 值。对于成熟的 microRNA 来说, Ct 值在 20 多是正常的 (一般在 25 到 30 之间)。许多人认为 Ct 值高于 35 就代表背景或干扰。我们使用 TaqMan 探针, 它背景很低, 因此我们能检测到低水平的 microRNA。另一个方法是将实时定量 PCR 的数据表示为“每个细胞中 microRNA 的拷贝数”。这在 2005 年《Nucleic Acids Research》杂志上 Caifu Chen 的文章

中描述过。其中有一些假设, 不过它对细胞中 microRNA 的拷贝数进行了很好的评估。它还有助于了解背景问题。一般说来, 每个细胞中 microRNA 的拷贝数为 10 或以下就可以认为是背景。

Frank Slack, Phong Trang, & Joanna Weidhaas

我们通常让 ABI TaqMan 程序来选择循环阈值。如果我们需要手工设定, 我想需要依赖阳性和阴性对照。

M.azim Surani & Fuchou Tang

我们通常将表达谱研究中的检测阈值设为恒定的 0.2。对于 pre-PCR 18 个循环扩增的 cDNA 样品来说, 理想的 Ct 值在 10-28 之间。如果 Ct 值大于 32, 表示 cDNA 模板的拷贝数很低。一般说来, Ct 值大于 28 时标准偏差相对很大。

Wei Yan

我们利用 SYBR green 和 ABI 的 7300 定量 PCR 仪进行 microRNA 定量分析。Ct 值是指荧光信号到达阈值水平时的循环数。将阈值水平设定为 0.1-0.3 时, 每个 microRNA 样品的 Ct 值可以自动计算。所有的 Ct 值都取决于目标 microRNA 的丰度。例如, 当使用 25ng scrDNA 时, let-7 的平均 Ct 值介于 17-20 之间。

Q3: 如何检测 miRNA? 使用 SYBR green 吗?

John Rasko & Stephane Flamant

我们是通过 TaqMan 探针来检测 microRNA 的。

Thomas Schmittgen

我们利用 TaqMan 探针来检测成熟的 microRNA。对于 microRNA 前体，我们用 SYBR green 或 TaqMan 探针。

Frank Slack, Phong Trang, & Joanna Weidhaas

我们用的是 ABI 的 TaqMan 探针，因为它比 SYBR green 特异性更好。但是也要贵一些。

M.azim Surani & Fuchou Tang

我们用 TaqMan 探针来检测 microRNA 的表达。对于多重 microRNA 分析来说，使用 SYBR green 降低特异性，并降低了检测的灵敏度，因为在 pre-PCR 扩增反应中，可能出现引物二聚体。

Wei Yan

对于定量 PCR 分析，我们利用 SYBR green 方法，因为它便宜一些，而且准确度和重复性与探针方法差不多。

Q4: 你如何确定检测效率？怎样称之为好的效率？

John Rasko & Stephane Flamant

为了确定这个实验方案，我们使用了 10 倍连续稀释的 let-7f 合成寡核苷酸。当起始物质低至 70 飞克时，let-7f 都可以检测到。

Thomas Schmittgen

谈到效率，这可是一个棘手的问题，尤其是对几百个不同的 microRNA 进行图谱分析时。由于 ABI 的不同 TaqMan assays 中引物及长度都是相似的，那么效率也或多或少相同。估计效率的简便方法就是比较 PCR 曲线的形状。相似的形状意味着相似的 PCR 效率。如果真正计算 PCR 效率，就要扩增 10 倍连

续稀释的 cDNA。然后就 Ct 值对稀释对数做图。效率等于 $10^{-1/\text{斜率}}$ 。效率在 1.85-2.05 这个范围都是可以接受的。

Frank Slack, Phong Trang, & Joanna Weidhaas

我们通过连续稀释 microRNA 标准来确定 PCR 反应的效率。每 3.3 个循环阈值表现为 10 倍扩增，那么效率就达到了 100%。如果一个对数扩增需要 3.3 个 Ct 以上，那么效率就低一些。好的效率应该是在 90%或以上。

M.Azim Surani & Fuchou Tang

对于反转录反应来说，只有 6-8nt 的引物与 microRNA 的 3'端配对，其检测效率差异很大。为了定量确定每个细胞中 microRNA 的绝对拷贝数，我们通过连续稀释的模板绘制标准曲线。虽然绝对的检测效率差异很大，但不同 microRNA 标准曲线的斜率还是相似的。因此，图谱研究的相对定量也是准确的，因为它是基于 ΔCt 值的。

Wei Yan

我们是通过

www.stratagene.com/techtoolbox/calc/qpcr_slope_eff.aspx (Stratagene) 上的效率计算器将 qPCR 标准曲线的斜率转化成效率。好的效率介于 90~110% 之间，对应的斜率是 -3.1~-3.6。

Q5: 如何区分前体和成熟的 miRNA？

John Rasko & Stephane Flamant

在 microRNA 分析之前，我们首先通过经典的 RT-PCR 来分析，用同样的 5' microRNA 特异引物和 3' 接头特异引物来扩增，然后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳。只有那些能扩增出预期大小如 95bp 左右的引物才用于 qPCR。如

果 PCR 产物大于理论值，我们会优化 PCR 条件或设计新的 5'引物。

Thomas Schmittgen

在 2004 年，我们发表了第一个定量 microRNA 的 PCR 方法。那个方法适用于定量 microRNA 前体。我们原本认为在某个特定的细胞或组织中，前体与成熟 microRNA 的量接近。在一些情况下是这样，但随着我们进行了更多的图谱分析，我们发现很多时候存在相当多的前体，却没有成熟的 microRNA。于是我们使用自己的 PCR 分析来检测前体，用 ABI 的 TaqMan assay 来检测成熟的 microRNA。

Frank Slack, Phong Trang, & Joanna Weidhaas

利用 TaqMan 实时分析，你应当设计两套不同的引物组和探针来检测前体和成熟 microRNA。对于成熟的 microRNA，你可以使用茎环结构的引物，对于前体，我想可以使用常规的引物，因为序列很长。

M.Azim Surani & Fuchou Tang

我们利用茎环结构的引物来进行 microRNA 定量，它只针对成熟的 microRNA。它不能转录前体 microRNA，因此 pri-microRNA 和 pre-microRNA 不会转变成 cDNA，也就不会干扰成熟 microRNA 的定量。

Wei Yan

在 qPCR 之后，所有的 PCR 产物都去跑一个 2%的琼脂糖胶，看看是否是单一条带，大小是否正确。成熟 microRNA 与前体 microRNA 的大小不同，在凝胶中会明显分开。包含 microRNA 的 PCR 产物大约为 120bp，而包含 pre-microRNA 的产物则在

170bp 左右。不过，我们的 PCR 方法优先扩增成熟的 microRNA。我们利用它分析了 140 多个 microRNA 的表达图谱，从没检测到 pre-microRNA。

Q6: 还需要其他的定量分析来进行补充吗?

John Rasko & Stephane Flamant

实际上我们的定量分析是作为普通 RT-PCR 的补充来获得定量数据，也可以进行半定量 PCR。我们还做 microRNA 芯片实验，另外，我们用实时定量 PCR 来验证候选的 microRNA。

Thomas Schmittgen

偶尔会做 northern blot。我们会用 northern blot 来帮助确认前体 microRNA 是否存在于反应中。因为 northern blot 能很好地区分 pri-microRNA 和 pre-microRNA，因此很有用。

Frank Slack, Phong Trang, & Joanna Weidhaas

如果我有足够的样品，而 microRNA 的水平足够高，我想我会做 northern 来检测。用 northern 来检测 microRNA 也是一个金标准。

M.Azim Surani & Fuchou Tang

我们通常会用基于实时定量 PCR 的 microRNA 图谱分析来核对样品中已知 microRNA 的表达，以及发现分化表达的候选 microRNA。然后再做单个的定量 PCR，用茎环结构的引物来检查一系列样品中的候选 microRNA 表达，以确认它们的生物相关性。

Wei Yan

如果是第一次做定量 PCR 或半定量 PCR 的话，就需要另一种定量分析如 northern blot 或 RNA 保护分析来证明 qPCR

的结果。至少要做 3 个样品，来看看定量结果能不能用另一种方法重现。

(生物通 余亮)

高通量快速检测三聚氰胺的方法



最近从三鹿奶粉引发的毒奶粉事件让大家谈奶色变，同时也让食品中三聚氰胺的快速可靠检测迫在眉睫。目前市场上对三聚氰胺的检测方法主要有高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱串联质谱法（GC-MS）以及液相色谱串联质谱法（LC-MS）。在去年的毒猫粮、毒狗粮事件之后，美国 FDA 就相继公布了用 GC-MS 和 HPLC 检测三聚氰胺的详细流程。同样受这一事件的影响，去年 6 月 14 日，中国农业部也发布了编号为 NY/T1372-2007 的《饲料中三聚氰胺的测定》的行业标准。

这几种方法相比较，HPLC 法的检测灵敏度为 2.0 mg/kg，而 GC-MS 则达到了 0.05 mg/kg。此外，在定量的同时，GC-MS 法还能明确被检测成分的分子式，因此被农业部确定为饲料中三聚氰胺检测的确证法。但是，这些方法中用到的仪器动辄上百万，甚至上千万，不要说个人，甚至一些小的企业或奶站都无力购买，只能望之兴叹。另外，它对样品处理和操作的要求也相对较高。既然要在各个环节中加强三聚氰胺的检测，那么普及如此昂贵复杂的仪器显然不符合中国国情。还有没有其他廉价又可靠的替代方法呢？

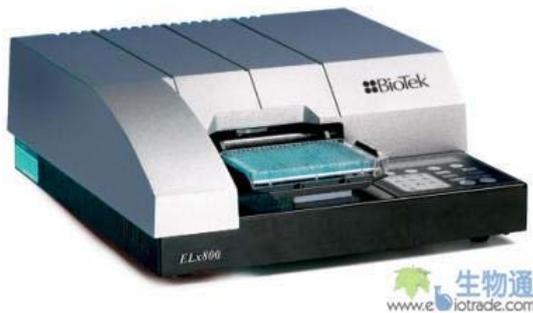
幸好，现在市场上也涌现出不少检测三聚氰胺的酶联免疫吸附分析（ELISA）试剂盒。进口的有 Beacon Analytical Systems 公司的 Beacon Melamine Plate Kit、Abraxis 公司的 Melamine Plate kit、Strategic Diagnostics 公司的 EnviroGard Triazine Plate kit 等，国产的有中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所开发的检测三聚氰胺的酶联免疫试剂盒等。

ELISA 检测试剂盒可是高通量检测三聚氰胺的有力工具。每个酶标板有 96 个孔，除去空白孔和对照孔，每次能检测 80 多个样品，这是其他方法所无法比拟的。且 ELISA 方法

不需要大笔的仪器投入和复杂的样品制备过程，操作人员很快就可以上手。因此美国 FDA 的研究员也在考察用 ELISA 方法检测三聚氰胺的可靠性。其中生物化学部的 Eric Garber 就将 Abraxis 和 Strategic Diagnostics 公司的试剂盒进行了比较，根据他的实验结果，Abraxis 公司的 Melamine Plate kit 检测灵敏度为 9 ng/ml，相比之下，Strategic Diagnostics 公司提供的 EnviroGard Triazine Plate kit 的灵敏度则为 1.5 mg/ml。而且他认为 Abraxis ELISA 方法可靠、快速，可以替代其他繁琐的检测方法。

下面就以 Beacon Melamine Plate Kit 为例，说明 ELISA 试剂盒的原理。利用萃取液通过均质及振荡的方式提取样品中的三聚氰胺进行免疫测定。先将三聚氰胺酶标记物，样品萃取物及标准加入到已经包被有三聚氰胺抗体的微孔中开始反应。在 30 分钟的孵育过程中，样品萃取物中的三聚氰胺与三聚氰胺酶标记物竞争结合微孔中的三聚氰胺抗体，之后洗掉小孔中所有没有结合三聚氰胺及三聚氰胺酶标记物。用去离子水洗涤，每孔中加入清澈的底物溶液，结合的酶标记物将无色的底物转化为蓝色的物质。孵育 30 分钟后停止此反应，根据各孔颜色深浅进行数据读取。依据标准的颜色得出样品中三聚氰胺的浓度值。

从上面的过程可以估算出,整个过程不超过 2 小时,检测范围为 20-500 ng/ml。这样一个试剂盒的市场价格在 3800 元左右,那么平均下来,每个样品的成本不到 50 元。这应该是很多地方质检机构和小型企业所能接受的。难怪 Beacon 的销售人员说最近一段时间试剂盒的销路特别好,不仅是企业,有些个人都买回去自己检测。



很多企业也认识到 ELISA 检测的经济快速。广东雅士利集团在检出三聚氰胺后,向大众发布的承诺书中表示已经购买了多台美国 BioTek 公司的 ELX800 酶标仪(下图),发放到各奶源收购点及生产基地。酶标仪就是 ELISA 实验所配套的检测仪器,不过它的价钱可平实很多,ELX800 的价格约为 3 万多。

如果你想要高通量快速检测三聚氰胺,ELISA 方法确实是很好的选择。它成本低、快速、通量高、对技术人员的要求低,满足了地方质检部门、小型企业及奶站的需求。

不过,如果你不满足于定量结果,还需要定性分析,那只能借助于高灵敏度的质谱和色谱仪了。ELISA 试剂盒不能定性分析,如果样品中存在与三聚氰胺类似的物质,有可能会干扰实验结果,呈现假阳性。因此国家权威质检机关也主要采用以下几种质谱和色谱仪器来进行检测。

赛默飞世尔科技的 Thermo Scientific

Accela 高速液相系统和 TSQ Quantum Ultra 三重四极杆质谱仪,建立监测加工食品中的三聚氰胺及其水解产物的液相色谱——串联质谱方法。TSQ Quantum 是唯一可以使用高度选择反应监测(H-SRM)模式的仪器,这种模式使动物组织等复杂样品的快速和有效分析更容易。这个方法用 Thermo Scientific 的 LC-MS/MS,得出的精密度和准确度值,完全满足食品药品监督管理局关于分析方法建立和确证的指导原则的要求。这套仪器也早在 2007 年就被美国国家食品安全与技术中心作为高优先级的三聚氰胺分析工作中关键的部分。“TSQ Quantum Ultra 在 H-SRM 模式下能够给我们提供非常高的信噪比,让我们获得很高的检测限。”Varelis 博士解释说,“它具有非常神奇的、非常卓越的灵敏度。并且非常耐用,因此每天可以给我们可靠和一致性的结果。”

安捷伦也推出了基于不同仪器平台的三聚氰胺检测方案,以满足不同客户对于食品及其原材料中三聚氰胺筛查,确认和准确定量的需要。安捷伦公司全面的气质联用、液相色谱和液质联用产品,为食品及其原材料中三聚氰胺的筛查、确认及准确定量提供多元化的选择。安捷伦 5975 系列 GC/MS 和 DB5-ms 毛细管色谱柱可用于各种基质中三聚氰胺的筛查;安捷伦 1200SL 液相色谱系统可用于三聚氰胺的定量分析,其中有关 Zorbax Rx-sil C8 LC column 更是美国 FDA 所采用的液相色谱柱。安捷伦 6410 三重四极杆 LC/MS 可以为三聚氰胺定性定量分析提供简单,灵敏和高选择性的一体化解决方案。

珀金埃尔默(PerkinElmer)推出用于检测食品中三聚氰胺的气质联用仪 包括利用自动进样器和 TurboMass 软件的 Clarus 600 T

气相色谱质谱联用仪。“在此系统的帮助下，实验室可以确保其分析的精确性，同时也符合美国 FDA 最新的检验淀粉，大米蛋白，玉米粉和大豆蛋白的相关标准。”此次三聚氰胺分析仪的技术是与 Flora Research 研究中心共同开发的，此研究中心是一家在 FDA 注册的擅长对天然产品进行检验的独立实验室。珀金埃尔默也是首家提供全套三聚氰胺检验用气相色谱质谱联用仪系统的公司。

具有讽刺意味的是，三鹿公司的质检部门也配备了 Waters 高效液相色谱仪，这么高端的仪器应该不会检测不出奶粉中高达 2563 mg/kg 的三聚氰胺吧。不知是质检人员的疏忽，还是这台仪器根本是形同虚设。免检、免检，连它自己都忘了检了。希望其他的知名企业和质检部门不会再有类似的问题发生。

QIAGEN 三款基因分型试剂盒新上市



QIAGEN 最近推出了三款基因分型试剂盒，分别用于快速准确的单核苷酸多态性 (SNP)、微卫星和突变分析。

Type-it Fast SNP Probe PCR Kit 为准确的 SNP 基因分型提供了终极解决方案，即使是困难的模板，或模板量很低，也能确保分型结果准确、可靠和高重复性。Type-it Fast SNP Probe PCR Kit 以方便的 master mix 形式提供，包含了高特异性的热启动 Taq Plus 聚合酶以及新开发的 SNP 分型缓冲液系统，能快速有效地扩增最困难的 SNP 位点，即使模板量很低，也能得到可靠的 SNP 分型结果。SNP 缓冲液的独特配方使等位基因特异的探针非常严格及特异地结合。Type-it Fast SNP Probe PCR Kit 已经用 Taqman SNP 基因分型分析验证过，与 Taqman MGB 探针兼容，也可用于其他包含 Taqman MGB、Taqman 探针及其他双标记探针的分析中。与传统方法相比，Type-it Fast SNP Probe PCR Kit 能节约四成的时间。

Type-it Microsatellite PCR Kit 可以利用微卫星、STR 或 VNTR 标记对人、动物、植物和细菌进行快速可靠的基因型分析，而无需冗长的优化步骤。不管你的分析类型是哪一种，只要加入你的模板和引物，根据优化好的步骤设定 PCR 仪并启动就可以了。Type-it Microsatellite PCR Kit 是基于 QIAGEN 的多重技术，包含了高特异性的热启动 Taq Plus

聚合酶和特别研制的多重缓冲体系，确保了高产量以及目的微卫星位点能够可靠地多重扩增。缓冲体系中特有的 MP 因子，能使引物不考虑是否序列完全互补，有效地进行退火和延伸。QIAGEN 所独有的 Q 溶液也包含在试剂盒中。Q 溶液能使高 GC 含量或富含二级结构的模板能够有效扩增。

Type-it Mutation Detect PCR Kit 能快速可靠地检测多个突变，如缺失、插入或易位。它还适于 SNP 分析中多重 PCR 预扩增，作为基因分型系统如 SnaPshot 的准备。它的成分与上面 Type-it Microsatellite PCR Kit 相似，都含有高特异性的热启动 Taq Plus 聚合酶、多重缓冲体系以及 Q 溶液，不过它还多了一个 CoralLoad Dye，包括了凝胶上样缓冲液和两种凝胶示踪染料，能够在电泳时估计 DNA 的迁移位置。在多重 PCR 反应中加入 CoralLoad Dye，之后 PCR 产物可直接上样电泳。染料也不会干扰大部分下游应用，不过在酶切操作之前最好还是对 PCR 产物进行纯化。

如果你想要了解这三个试剂盒的更详细信息，请访问：www.qiagen.com。

(生物通 余亮)

高品质化学合成的 siRNA —— 快速 高效 经济



订购 siRNA, 免费 转染试剂

即日起至 2008 年 9 月 30 日:

活动一:

每 4 管 FlexiTube siRNA, 即可免费获得 100 ul HiPerFect 转染试剂。
FlexiTube siRNA 为 1 nmol 包装, 可供 200 次转染 (12-well plate)。

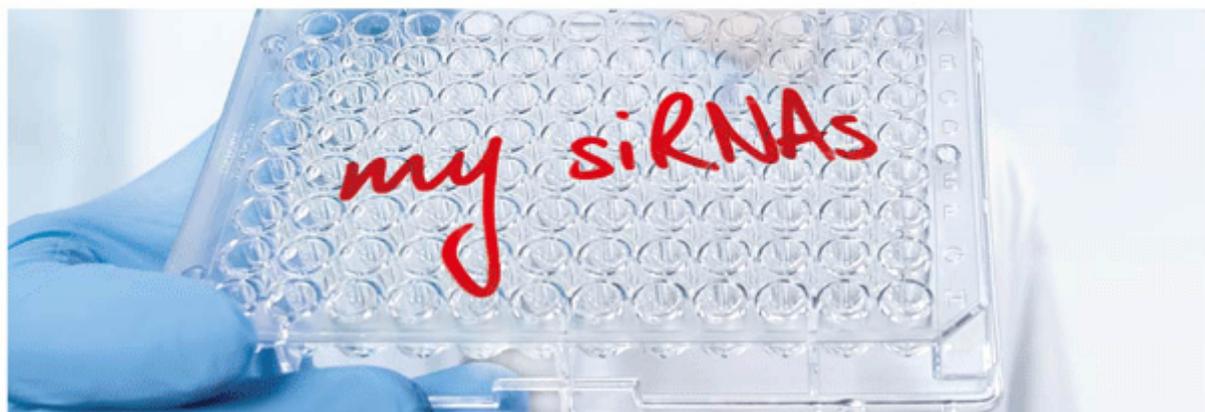
活动二:

每 2 管 HP GenomeWide siRNA (5 nmol) 或 HP Validated siRNA (5 nmol) 即可免费获得 100 ul HiPerFect 转染试剂。

FlexiTube siRNA 经济的选择



QIAGEN 还提供其他 siRNA 产品和服务, 供您灵活选择:



预设计的 siRNA 覆盖人、小鼠、大鼠基因组

客户定制 siRNA 设计或合成

大量合成体内实验用 siRNA 1mg — 10g

- HP GenomeWide siRNA (20nmol)
- HP Validated siRNA (经实验验证的 siRNA, 20nmol)
- 各种阴性、阳性、转染优化对照
- 针对各种基因家族的 siRNA sets, 非常适合中、高通量 RNAi 实验, 如药物筛选

9重筛选
品质保障

QIAGEN 先进的 siRNA 设计体系 — HP OnGuard siRNA Design

All siRNA duplexes in HP siRNA Sets are designed using the revolutionary HiPerformance design algorithm (HP OnGuard siRNA Design) licensed from Novartis Pharmaceuticals. This algorithm is based on the largest independent study of siRNA functionality to date, in which the gene silencing efficiency of over 3300 duplexes directed against 33 targets was analyzed. The HiPerformance design algorithm is integrated with a proprietary homology analysis tool and a comprehensive gene database, delivering siRNA that provides maximum gene silencing efficiency and minimum off-target effects.

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

E-mail: Techservice-cn@qiagen.com <http://www.qiagen.com>

Roche 最新推出多重基因表达芯片



Roche NimbleGen 最近推出了适用于 HD2 平台的 NimbleGen 基因表达 12×135K 芯片。这个 12 重芯片为全基因组基因表达图谱提供了高通量且经济划算的方案：在一张芯片上可以同时分析 12 个独立的样品。每张芯片上有 135,000 个长的寡核苷酸探针，能够实现完整的转录本覆盖。与 NimbleGen 的 385K 和 4×72K 芯片相似，新的 12×135K 芯片显示了高特异性、高灵敏度和极佳的重复性。目前有 8 种真核目录设计（人、小鼠、大鼠、拟南芥、线虫、果蝇、酿酒酵母和裂殖酵母），都是基于最流行的全基因组结构。如果研究者对最近测序或注释的基因组感兴趣，Roche NimbleGen 也可以提供定制设计。

美国印第安纳大学基因组学和生物信息学中心的基因组学主管 John Colbourne 一直使用 HD2 12×135K 芯片来研究淡水小型甲壳动物水蚤群体如何对环境压力做出反应。他们应用 NimbleGen 表达芯片来验证目前的基因列表，并完善基因结构模型。他们认为实验结果更好地描绘出基因组的转录区域。由于每一个 12 重芯片能容纳 135,000 个探针，Colbourne 的研究小组为每个预测的基因设计出三个探针，每个转录区一个探针。

Colbourne 表示：“大约有 40% 的探针位于未注释的区域。而没有其他的芯片能轻松承担这种‘奢侈’。我们的转录图谱实验很快检测到了所有鉴定基因以及许多未知基因在一系列环境中的共调控，同时也改善了基因组注释。”

灵活的定制设计和基因表达数据的卓越品质使 12×135K 芯片脱颖而出。这种多重形式更经济划算，同时也不会损害数据质量。康奈尔大学医学院的副教授 Licia Selleri 就证实“NimbleGen 的 12 重基因表达芯片的使用是有优势的，且比其他平台更准确，因为它能在同一个实验中通过重复分析来确认”。Selleri 研究人类原癌基因的发育贡献，以及 Pbx1 的生物功能。在她的实验室，他们应用很多遗传

方法来搭建基因和基因功能之间的桥梁。她很欣赏 12×135K 芯片的功能性和数据的轻松判读。她说：“芯片杂交操作相对简单，而数据分析也很容易掌握，不需要很专业的信息学技能。”

NimbleGen 的芯片技术已经使用在无数的应用中，例如研究组织和细胞中与多个信号通路相关的基因表达水平。研究人员已经利用了这个系统的灵活性来鉴定组织分化中的因子，并评估亲缘关系相近的物种的基因分化表达模式。后续的潜在应用还包括癌症和干细胞研究中的基因表达研究、细胞分化、药物试验、环境研究和食品检测。

Roche NimbleGen 的总裁兼 CEO Gerd Maass 表示：“12×135K 芯片是实现高通量基因表达图谱的强大工具。将 NimbleGen 定制设计和高探针密度结合起来，这些芯片可以方便准确地分析大量物种，从最简单的细菌到复杂的哺乳动物和植物。这些芯片将加速功能基因组学研究，为我们的目标提供创新的解决方案和更快更准确的结果。”

Roche NimbleGen 是 DNA 芯片、耗材、仪器和服务的领先生产和供应商。Roche

NimbleGen独家生产长的oligo探针的高密度芯片,为基因组和表观基因组变异研究提供了更高的信息含量和更好的数据质量。Roche NimbleGen专利的Maskless Array Synthesis (MAS) 技术进一步改善了性能,它使用数字光处理和快速、高产的光化学来合成长oligo和高密度的DNA芯片,并具有极高的灵活性。如果你还想了解Roche NimbleGen的更多信息,请访问www.nimblegen.com。

关于罗氏

总部设在瑞士巴塞尔的罗氏,是一个世界领先的、注重科研的医药和诊断产品开发集团。作为世界上最大的生物技术公司,该集团为疾病的早期发现、预防、诊断和治疗提供了

创新产品和服务,在改善人类健康和生活质量的各个方面都做出了大量贡献。罗氏公司是体外诊断的世界领先公司,是治疗癌症和器官移植所需药物的领先供应者,也是病毒学的市场领导者,并活跃在其他主要的治疗领域,如自身免疫性疾病,炎症,代谢及中枢神经系统。2007年该集团药品部的销售总额为368亿瑞士法郎,诊断部的销售额为93亿瑞士法郎。罗氏公司与众多的合作伙伴签订了研发协议并结成战略联盟,包括在美国基因技术公司(Genentech, Inc.)和日本中外制药株式会社(Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.)拥有多数股权,2007年研发投入达80亿瑞士法郎。罗氏集团的全球员工总数约8万。如需了解更详细的信息,请访问www.roche.com。
(生物通 余亮)

赛默飞世尔科技

让样品测定更快、更简单



赛默飞世尔科技为生命科学研究开发了一整套 Thermo Scientific 紫外-可见和荧光分析解决方案。从常规 UV-Vis 吸收到化学发光，广泛的产品线让生命科学、制药和生物技术实验室更快、更简单地进行灵敏可靠的检测。另外，赛默飞世尔科技还推出了一个微型网站 www.thermo.com/easyassay，提供了产品线的详细信息。

Thermo Scientific 60 多年来一直致力于生产高品质的 UV-Vis 分光光度计，在此方面享有盛誉。最近，它又开发出 BioMate 6 double-beam UV-Vis 分光光度计。从常规的核酸和蛋白定量到酶动力学分析，该仪器为一系列生命科学应用提供了快速、可靠的结果。BioMate 6 还可以通过添加一系列附件来进行升级，提供准确的温度控制、自动化、多细胞分析和小体积取样。仪器中还包含了灵活的 oligo 计算器，能计算分子量、理论的 Tm 值和 oligo 浓度。

Thermo Scientific UV-Vis 产品还新添加了一个 DNA 标准，能验证 260nm 测定的核酸浓度，以及通过 260/280 比例测定的纯度估算。在核酸样品制备时通常需要很多个步骤，有时会导致产量很低。这个 DNA 标准确保了分光光度计能提供准确的浓度和纯度测定。它能模拟核酸样品的光谱性质，在 260nm 提供标准的吸光度，而与仪器的波段宽度无关。此外，280nm 的标准吸光度就产生了标准的 260/280 比值。

赛默飞世尔科技紫外-可见和荧光产品的另一个新成员是 Quantech™ 数码滤波荧光计，无论是简单的荧光素分析，还是更复杂的 FRET 生物测定，它都能提供准确而灵敏的荧光测定。滤波荧光计比基于单色仪的扫描仪器

灵敏度更高，而费用只是它的一小部分。对于想通过荧光测定浓度或只对样品的总发射光感兴趣的研究者而言，Quantech 数码滤波荧光计是可靠又划算的解决方案。这个小巧的荧光计节约了宝贵的实验室空间，可在内存中储存最多 9 个标准曲线。

如果你还想了解关于 Thermo Scientific 紫外-可见和荧光分析方案更多内容，请访问 www.thermo.com/easyassay。

Thermo Scientific 是服务科学领域的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。

（生物通 余亮）

RAININ 瑞宁 Pipet-One

手动移液器火热登场

梅特勒-托利多最新推出 RAININ (瑞宁) Pipet-One 手动移液器。

人体工程学设计，远离手部疲劳

- 轻质吸液和排液弹簧

降低手部疲劳和损伤，比传统移液器节省
25%活塞推进力

- 带指钩的符合人体工程学原理的枪体设计

使用时无需时刻紧握，操作间隙手部可以得到放松

- 退吸头器内置硅树脂减震器

减缓退吸头时拇指所受的撞击力，为您拇指提供更多保护

- 快速释放型吸头推出器

轻按退出器上的弹出钮即可轻松拆下退吸头器

止脱锁的设计确保退吸头器不会意外脱落

- 全进口配件，性能卓越，持久耐用

全进口配件，国内组装，产品经久耐用

表面防滑设计让您操作时手部更加舒适

推广期间优惠价 900 元/支

注：*PO-5000, PO-10ML 和 PO-START

除外



订货信息：

型号 订货号 量程

PO-2 12103709-CN 0.1 μ l-2 μ l

PO-10 12103710-CN 0.5 μ l-10 μ l

PO-20 12103711-CN 2 μ l-20 μ l

PO-100 12103712-CN 10 μ l-100 μ l

PO-200 12103713-CN 20 μ l-200 μ l

PO-1000 12103714-CN 100 μ l-1000 μ l

PO-5000 12103715-CN 500 μ l-5000 μ l

PO-10ML 12103716-CN 1ml-10ml

PO-START 12103759-CN 移液器套装



His 融合蛋白 纯化中常见问题解答集锦

对于 HIS 标签蛋白纯化的产品，如何选择？

我公司为纯化组氨酸标记的蛋白质提供了全面的解决方案，产品种类丰富应用广泛（见图 1），下面一一介绍其特点和应用。

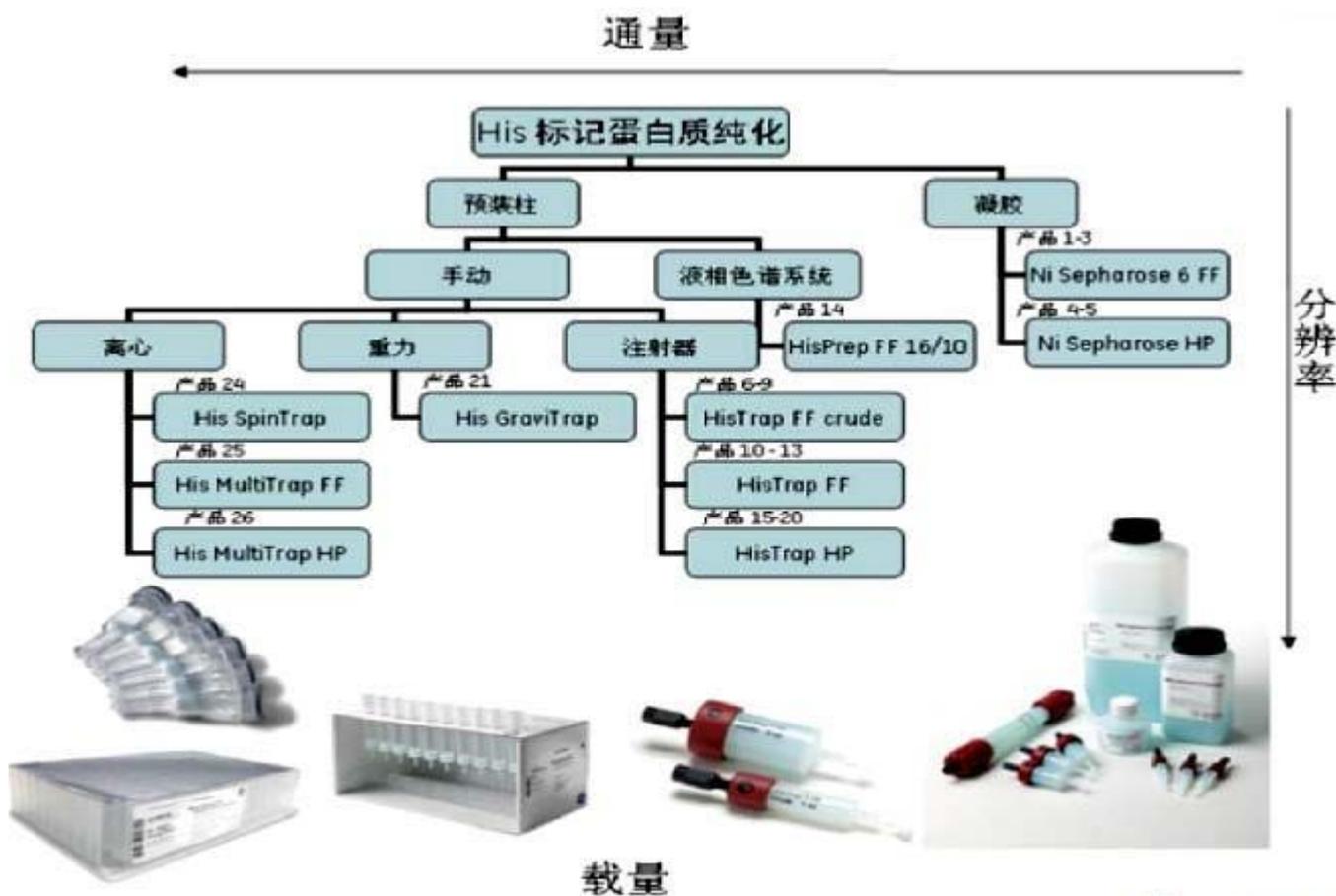


图1. His产品的选择

Ni Sepharose High Performance

用于高分辨率纯化的预带电荷的介质 Ni Sepharose High Performance，通过耦联 Ni 使介质预带电荷，使用非常方便。和其它厂家的同类产品比较，它具有高载量和低的 Ni 脱落的特点，低的镍脱落保证的 HIS-标记的蛋白质在多次重复的纯化中保持可靠的载量。同

时 Ni Sepharose High Performance 填料的颗粒大小只有 34um，具备最高的分辨率和最低的样品稀释。Ni Sepharose High Performance 除了有散装填料形式，也具有 HiSTrap1MI 和 5MI 的实验室预装柱，可以连接 AKTA 仪器，蠕动本以及手动注射器操作，使用非常方便。

His MultiTrap HP 96 孔过滤板

用于高通量筛选和多样品的平行纯化,预装了 Ni Sepharose High Performance 的填料,未澄清的细胞裂解液可以直接上样,具有高重复性,操作简单方便快捷的特点。

His SpinTrap 柱

用于少量的蛋白质制备,预装了 100ul 的 HP 填料,可以直接上澄清和未澄清的样品,可用于细菌细胞裂解液的筛选和优化纯化条件,与标准离心机使用,一次纯化仅需 10 分钟。

Ni Sepharose6 Fast Flow

高度交联的琼脂糖的高流速性质,使其成为批次纯化,蛋白制备和放大生产的首选介质。Ni Sepharose6 Fast Flow 填料具有非常高的载量,意味着纯化同样的蛋白所用的介质就更少,成本就更低。和其它厂家的同类产品比较,它具有高载量和低的 Ni 脱落的特点,低的镍脱落保证的 His-标记的蛋白质在多次重复的纯化中保持可靠的载量。同样具有高载量和低的 Ni 脱落的特点。同样有 HisTrap FF 预装柱和 His MultiTrap FF96 孔板的形式,方便不同目的的纯化。

His Trap FF crude 预装柱

从未澄清的细胞裂解液中直接纯化目标蛋白质。HisTrap FF crude 1 ml 和 5 ml 内预装了 Ni Sepharose 6 FF,可以直接上样未澄清的细胞裂解液,这样减少样品制备时间,加快纯化速度,使在有蛋白酶存在的细胞裂解液中敏感的目标蛋白质的降解可能性降到最小。

His GraviTrap 简单的纯化和快速得到结果

His GraviTrap 是预装了 Ni Sepharose 6 FF 一次性使用的柱子。柱子可以用重力不需要系统快速简单的纯化,澄清的和未澄清的大体积的样品可以一次性上样,一次纯化的时间大约在 30 分钟(根据样品的体积和黏度)

HisGraviTrap 包含在 HisGraviTrap 的 Kit 中,其中包含了优化过的,可供 20 次纯化使用的缓冲液。

His Buffer Kit——方便添加的预制好的缓冲液 Kit 含有结合、清洗和洗脱的浓缩缓冲液,适合于 Ni Sepharose 和 IMAC Sepharose 产品,节省了耗时的缓冲液配置时间,加快纯化目标蛋白质

纯化的组分中没有 His 标签的蛋白?

经常我们的客户反馈没有纯化到 His 标签蛋白,不要着急,我们——来排除可能的原因,首先确定是蛋白没有挂上柱子都流穿了,还是蛋白没有被洗脱下来,然后——检查原因:若 His 标签蛋白没有结合上去都流穿了,请依次检查:

- **可能原因:** 超声的功率不对(太大,蛋白炭化,太小,蛋白没有释放)

策略: 改变超声功率,并在超声前加入溶菌酶

- **可能原因:** 样品或者是结合缓冲液不正确:

策略: 检测 pH 及样品和结合缓冲液的组成份。确保在**溶液**中螯合剂或强还原剂的浓度及咪唑的浓度不是太高。

- **可能原因:** 组氨酸的标签没有完全的暴露

策略: 在变性条件下(用 4-8 M 脲,

或 4—6 M 盐酸胍)进行纯化。

- **可能原因:** HIS 标签丢失,

策略 1: WB 或者 anti-his 的抗体检查 His 是否表达, 上游构建, 改变 his-tag 的位置 (C-terminal or N-terminal), 必要时增加 his 个数(常用 6-10 个)。

策略 2: 孵育的时间不够, 降低流速和增加孵育的时间。

策略 3: 改变整合的金属离子, 寻找到最佳的结合金属离子。

Ni²⁺通常是从宿主细胞蛋白中纯化大多数(组氨酸)₆ 标记的重组蛋白质的首选金属离子。也是一般最常用的离子。蛋白和金属离子之间的结合强度受几种因素影响, 包括长度、位置、亲和标记在蛋白的暴露程度、所用离子的类型、以及缓冲液的pH, 因此一些蛋白用其他离子可能更容易地进行纯化而不用 Ni²⁺。可以利用Hitrap IMACHP来筛选不同的金属离子, 具体应用实例请参考

《Recombinant Protein Purification Handbook》, 或者登录 www.gelifsciences.com.cn 查询。

若没有洗脱下来, 请依次检查:

- **可能原因:** 洗脱条件太温和 (组氨酸标记的蛋白质仍然结合在柱上, 结合力较强)

策略: 用增加咪唑的梯度洗脱或降低 pH 来找出最佳的洗脱条件。

- **可能原因:** 降低 PH 的方法洗脱的, 因为若 PH 低于 3.5, 会导致镍离子脱落

策略: 改变洗脱办法, 咪唑竞争性洗脱

- **可能原因:** 蛋白已沉淀在柱上

策略: 减少上样量, 或使用咪唑的线性梯度而不是分步洗脱以降低蛋白的浓度。试用去污剂或改变 NaCl 的浓度, 或在变性条件(去折叠)下洗脱(用 4—8 M 胍, 或 4—6 M 盐酸胍)。

- **可能原因:** 非特异性疏水或其他相互反应

策略: 加非离子去污剂到洗脱缓冲液 (如, 2% Triton X-100) 或增加 NaCl 的浓度。

HIS 标签蛋白洗脱后杂带较多, 什么原因? 如何优化?

高纯度的蛋白是纯化工作者的追求, 但是由于很多天然的蛋白也会带有 HIS, 所以经常会出现 HIS

标签蛋白洗脱后有一些杂带, 可能的原因和优化的方法如下:

- **可能原因:** 蛋白酶部分降解了标签蛋白,

策略: 请添加蛋白酶抑制剂, (慎用 EDTA)。

- **可能原因:** 杂质对镍离子有更高的亲和性

策略 1: 咪唑浓度必须优化, 以确保高纯度(宿主细胞蛋白质的低结合)和高产率(组氨酸标记的目标蛋白质的强结合)之间的最佳平衡。分步或者线性洗脱摸索出最优的咪唑结合和清洗浓度; 在样品中加入与结合缓冲液同样浓度的咪唑; 咪唑的梯度不大(20 个或更多的柱床体积), 可能分离出有相似结合强度的蛋白。应用实例可以参考 [《生命科学园》2006 年 8 月第 23 期](#)

策略 2: 筛选最适合的缓冲液条件, NaCl 浓度, PH 的范围都需要进行筛选以下是 (His)6-NuRR1 蛋白在 His MultiTrapFF96 孔板

上进行缓冲液条件的筛选以便决定最佳的结合和洗脱条件。对于单一目标蛋白在进行缓冲液筛选时, 将缓冲液、盐、甘油和还原剂设计成 96 个不同的混合配方。实验结果显示对于该目标蛋白在 25mMTris, 10mMNaCl, 10%甘油, PH8.5 的缓冲液适最佳的结合条件。详细的实验方法流程请参考生命科学园 2007 年 8 月 25 期(参见下面图片 2)

策略 3: 若以上优化的条件都不能去除杂质蛋白, 需要考虑多步纯化的思路, 离子交换 (HiTrap Q HP or HiTrap SPHP) 和凝胶过滤 (Superdex™Peptide, Superdex 75 or

Superdex200) 是必须的. 以下是用 ÄKTExpress 仪器进行四步纯化的实例。AC(亲和), DS(脱盐), IEX(离子交换), GF(凝胶过滤)所有的步骤都在 ÄKTExpress 上自动执行, 包括柱上的标签酶切。(参见下面图片 3) 文章出处《Recombinant Protein Purification Handbook》

- **可能原因:** 杂质和标签蛋白结合在一起

策略: 在超声破碎细胞之前加入去垢剂或者还原剂; 增加去垢剂的浓度, (2% Triton X-100 or 2% Tween 20); 或者在 wash buffer 中增加甘油的浓度(50%)减少非特异性的相互反应; 考虑增加咪唑的浓度或者改变金属离子。

- **可能原因:** 洗涤不充分

策略: 增加洗涤的次数, 使洗涤充分。

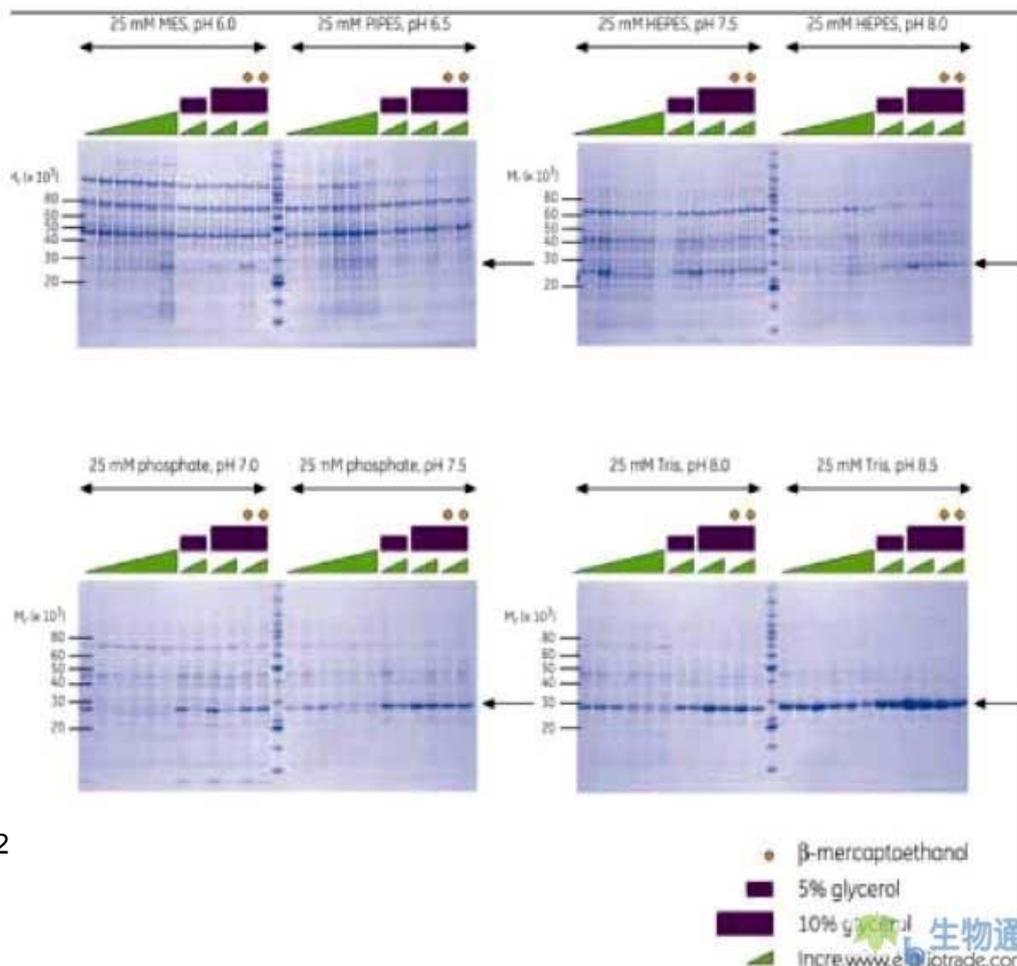


图 2

Columns: AC: HiTrap HR, 5 ml
 DS: HiPrep 26/10 Desalting
 IEX: RESOURCE[®] Q, 6 ml
 GF: HiLoad 16/60 Superdex[®] 75 pg
 APC234, M_r 32 000 (cleaved product, M_r 30 000)
 Sample:
 Cleavage conditions: 200 units of AcTEV[™] protease/mg protein, 8 h incubation time at room temperature
 AC binding buffer: 50 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 20 mM imidazole, pH 7.5
 AC cleavage buffer: 50 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 50 mM imidazole, pH 7.5
 AC elution buffer: 50 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 500 mM imidazole, pH 7.5
 DS and IEX binding buffer: 50 mM Tris-HCl, pH 8.0
 IEX elution buffer: 50 mM Tris-HCl, 1 M NaCl, pH 8.0
 GF buffer: 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, pH 7.5

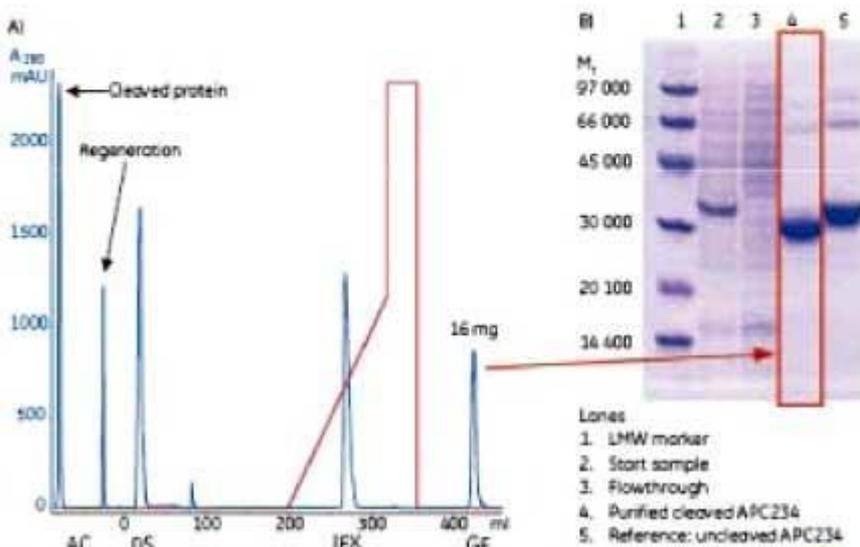


Fig 4A. (A) Four-step protocol for purification of (histidine)₆-tagged protein cleaved with AcTEV protease purified protein using SDS-PAGE. The gel was stained with Coomassie.

图 3

以上是针对我们客户在使用产品过程中经常出现的问题进行讨论分析。未完待续，同时欢迎大家登录 AKTAc Iub 用户俱乐部论坛加入讨论

(www.ebiotrade.com/amershambbs)

[点击获取更多更新关于His融合蛋白纯化的常见问题解答。](#)

蛋白质组学解决方案 在高端心血管研究中的应用

Dr Manuel Mayr, King's College London and Dr Paul Humphrey, Thermo Fisher Scientific

本文将讨论伦敦国王学院采用的蛋白质组学解决方案在先进的心血管研究中的重要性。

引言

蛋白质组学是对蛋白质的大范围分析,被认为是生物系统研究的下一趋势。尽管干细胞疗法对于再生医学和组织工程具有很大的潜力,但是干细胞如何分化为心血管系统细胞的机理仍不明晰。很多以往的研究着重于基因表达,但是蛋白质组学能够在超越基因水平上通过对蛋白质改性的研究推进对干细胞分化的认识。

高端蛋白质组学解决方案的出现使得研究者可以揭示干细胞分化的新认识,这一点通过传统技术无法获得。该方法的应用可能引出治疗和治愈心血管疾病的新方法。

研究进展

伦敦国王学院 James Black 中心的心血管蛋白质组学研究团体 (The Vascular Proteomics Group) 正进行蛋白质组学的最新研究。该团体具有包括基因组学、蛋白质组学、多光子共聚焦显微镜技术 (multiphoton confocal microscopy) 和核磁共振成像技术 (MRI) 等一系列核心能力。2007 年 12 月,心血管科获得了英国心脏基金会颁发的优秀研究奖金 9,000,000 欧元奖金。部分奖金将用于推进蛋白质组学研究应用于心血管疾病的发展。国王学院的研究焦点之一就是确定干细胞如何修复心血管或者缺血心肌。

心血管蛋白质组学研究团体进行研究的

目的是解释干细胞起源的心血管细胞不同的蛋白质组学和代谢特点。因为干细胞研究对于再生医学和组织工程具有深远意义,研究的总体目标是鉴别出可能成为促进干细胞分化的药物靶标的关键蛋白或者小分子。

蛋白质组学在心血管研究中的重要性

以往研究局限于表面标记物的表达来表征干细胞。然而,细胞表面标记物并不一定表明很多细胞活化状态的信息。但是它可以解释为什么注射入一个病人体内的干细胞比在另外一个病人体内更有效。

心血管蛋白质组学研究团体的目标是展示注入病人体内的细胞特性及其分子特性的综合架构。这一目标需要通过分离干细胞和研究其分泌因子来完成。标准的 ELISAs (酶联免疫吸附试验) 可以一次测试一个分子,质谱可以对某个数值以上的所有蛋白进行综合测试。分泌蛋白质组的复杂性是非常有限的,因此,即使是 ng/mL 水平的蛋白质,例如细胞因子和趋化因子,也可以被鉴别出来。

随着研究的进行,国王学院将分离出病人的干细胞,表征其分泌因子,并设法确定干细胞如何有益于临床应用。

挑战

心血管蛋白质组学研究团体进行的研究中,所用设备的灵敏度和耐受性是非常重要的。国王学院的研究者和技术人员是生物医学



研究者,因此,该团体所需要的是一种用户友好,几乎不需要日常维护,并可以给出高准确数据的非常可靠的解决方案。该解决方案必须进行短肽序列分析和提供准确的蛋白鉴定。国王学院要求前沿技术来支持研究中心多学科环境和核心能力。

因此,中心要寻找一种高速、强大而尽量少维护的系统,用以发展鉴别复杂蛋白质的高通量方法。该系统可以保证小组准确分析很多样品。操作仪器也需要高度灵敏和高度可靠以便应用蛋白质组学来保证细胞分化和在移植或者组织修复中的安全使用。

解决方案

对于这项具体的研究,国王学院要求一种高灵敏度仪器来处理大数量的样品和分析低浓度水平的较大的分子。

国王学院购买了高性能质谱、蛋白质鉴定和生物标记物发现工作平台(Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL)和具有电子转移解离能力(ETD)的线性离子阱(Thermo Scientific LTQ XL)等仪器的组合。这些设备提供了研究必需的高质量和高灵敏度。

采用高性能的线性离子阱使得国王学院可以比传统离子阱质谱输送更多的结构信息;ETD选项则提供了传统分析方法无法提供的序列信息。研究小组发现通过快速交互变换破

碎技术,可以显著扩大蛋白质组的范围,并增强了蛋白质改性鉴定的把握。心血管蛋白质组学研究团体相信ETD技术是蛋白质组学研究的未来,因而愿意成为首先使用这种前沿设备的一员。ETD提供了蛋白质分析中最前沿的技术,该组织相信,在未来,ETD将成为蛋白质组学研究中广泛应用的一种破碎技术。

Orbitrap XL 很高的质量准确度和分辨率使得国王学院可以研究不同干细胞的分泌因子。即使是低丰度蛋白,仍然可能获得可靠的匹配,而准确的质量则增加了复杂基质中肽分析的可靠性。

这些不同仪器的组合为复杂的蛋白质分析和智能肽序列分析提供了综合解决方案。

结论

国王学院的心血管蛋白质组学研究组织将蛋白质组学应用于干细胞和心血管研究中。该研究的潜在意义在于应用于临床治疗。从长远看来,该组织希望鉴定因子,这一点传递了干细胞疗法的优势。从药理学观点来看,给病人注入蛋白或者小分子比细胞要好的多。

将蛋白质组学应用于心血管研究中的高级专业技术将会帮助今天的研究者推进他们对心血管疾病的认识,并有助于将来新药物的发现以及基于干细胞的治疗。

美国国家食品安全与技术中心选择 Thermo Scientific 质谱检测三聚氰胺



引言

2007年初，当在动物食物源中发现存在三聚氰胺的时候，美国国家食品安全与技术中心就需要快速的了解更多关于食品加工过程对化学品的影响，从而知道如何精确的检测食品中三聚氰胺的存在。

位于芝加哥，伊利诺斯的美国国家食品安全与技术中心，是一个由美国食品药品监督管理局食品安全与应用营养中心、伊利诺斯工学院以及食品工业组成的研究团体。美国国家食品安全与技术中心合并了食品药品监督管理局食品加工科学与技术部，由食品药品监督管理局于1988年创办，最初的目的是与工业之间形成一条纽带，共享食品工艺领域的专家。美国国家食品安全与技术中心能够让工业代表与食品药品监督管理局的科学家在食品安全与工艺的研究项目上合作。

这种合作，能够及早的洞悉突发的食品安全问题，确保在创新上极其重要的新工艺的安全性。

美国国家食品安全与技术中心借助Thermo Scientific TSQ Quantum™三重四极杆质谱仪的先进分析技术，建立了一个新的液相色谱——串联质谱方法测定食品中的三聚氰胺。TSQ Quantum的灵敏度和耐受性，在建立这种高优先级的方法学以确保全国食品供应的安全性方面来说，是必需的。

Thermo Scientific Accela 高速液相和TSQ Quantum 三重四极杆质谱仪用于建立监测三聚氰胺的LC-MS/MS方法

背景

关于宠物食品、动物饲料、小麦麸和其它含蛋白质的日常食物中存在三聚氰胺的消息，引起了人们对动物和人的食物链中的化学品的关注。三聚氰胺是生产塑料、阻燃剂和其它产品常用的工业化学品，禁止用于食品和动物饲料中。美国从中国进口的宠物食品中，发现了污染的植物蛋白，这也导致了2007年3月15日起全国性的召回宠物食品事件。此外，一部分污染的宠物食品被用于生产农场的动物饲料和鱼饲料。美国食品药品监督管理局和美国农业部发现一些吃了污染饲料的动物被加工成了人类的食品。

由于美国国家食品安全与技术中心要对食品加工过程对特定的成份的影响进行评估，伊利诺斯工学院生物、化学和物理学院的教授Peter Varelis博士知道美国国家食品安全与技术中心需要掌握当三聚氰胺和三聚氰酸——一种与三聚氰胺相关的化合物——被加工进食品中后，到底会发生什么。这个知识对监测食品中存在三聚氰胺和三聚氰酸时应该测定的降解产物是非常必要的。

执行

2007年7月，美国国家食品安全与技术中心开始使用配备了Thermo Scientific Accela™高速液相系统的TSQ Quantum 三重四极杆质谱仪，建立监测加工食品中的三聚氰胺及其水解产物的液相色谱——串联质谱方法。TSQ Quantum是唯一可以使用高度选

择反应监测(H-SRM)模式的仪器,这种模式使动物组织等复杂样品的快速和有效分析更容易。这个方法用 Thermo Scientific 的 LC-MS/MS, 得出的精密度和准确度值, 完全满足食品药品监督管理局关于分析方法建立和确证的指导原则的要求。

仪器的选择

在进行三聚氰胺的研究之前,美国国家食品安全与技术中心的实验室并没有安装 LC-MS 系统。Varelis 博士以前在其它的实验室有使用 Thermo Scientific 的仪器的经验,他对 Thermo Scientific 公司的客户支持服务印象非常深刻。这两个因素导致了美国国家食品安全与技术中心决定选择 Thermo Scientific 的 LC-MS 仪器。

“公司给我们提供了关于色谱柱、色谱条件、质谱仪设置等方面的有用的建议,以获得最佳灵敏度。”Varelis 博士说。“这是一种巨大的帮助。TSQ Quantum 系统在三聚氰胺的分析上得到了应得的认可。我们可以很容易的在含有 10ppb 三聚氰胺的鲶鱼的分析中,获得超过 3800 的信噪比。”Varelis 博士是这样评论的。

测定鲶鱼中的三聚氰胺残留的现有方法(实验室信息通报No. 4396)是由位于丹佛的食品药品监督管理局动物药物研究中心建立的。该方法使用TSQ Quantum质谱仪,配备了Thermo Scientific的Surveyor™型 LC-MS型液相泵和自动进样器。方法表明 Thermo Scientific的仪器能够检测出鲶鱼提取物中 10ppb水平的三聚氰胺,超过了食品药品监督管理局规定的要求。

好处

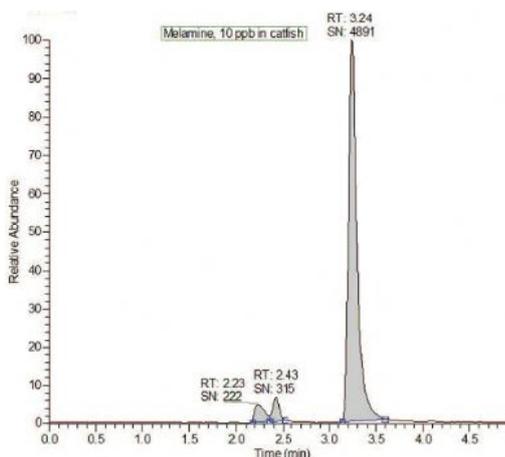
美国国家食品安全与技术中心发现

Thermo Fisher Scientific 的 LC-MS 仪器,以及与其的客户支持服务团队的合作,是进行高优先级的三聚氰胺分析工作中关键的部分。

“TSQ Quantum 在 H-SRM 模式下能够给我们提供非常高的信噪比,让我们获得很高的检测限。”Varelis 博士解释说,“它具有非常神奇的、非常卓越的灵敏度。并且非常耐用,因此每天可以给我们可靠和一致性的结果。”

下一步

美国国家食品安全与技术中心正在进行此 LC-MS/MS 方法的确证工作,马上将会开始食品加工技术如何影响三聚氰胺的研究工作。



从含有 10ppb三聚氰胺的加工的鲶鱼中得到的总离子色谱图,ESI正离子检测。提取物的分析采用Thermo Scientific的 150×2.1 mm BioBasic™ AX色谱柱和Accela液相系统。分析物的检测通过TSQ Quantum 完成,监测的离子对为m/z 128→85 和m/z 128→68。

结论

TSQ Quantum 的灵敏度和耐受性,被证实是在建立这种高优先级的方法学时,是至关重要的因素。因此,美国国家食品安全与技术中心能够对突发事件作出快速的反应,协助保护全国的食品供应的安全性。

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

开学大促 近期十款降幅最大产品



在这个 CPI 居高不下的年代，降价、打折恐怕是最能吸引眼球的字眼了。开学伊始，各大厂家也纷纷推出多款促销套餐，期望能来个开门红。生物通这就给大家盘点一下最近降幅最大的十款产品，让你只买值的，不买贵的。

第一名：MERCK 的潮霉素 B 3.8 折

上榜理由：德国默克作为世界上最大的潮霉素 B 供应商，其品质当然毋庸置疑。在 9 月 1 日部分化学品涨价之后，还能将此产品价格维持在 3.8 折，实属不易。原价 2189 元，现价 840 元。同时促销的还有 DEPC、SDS 和 G418 等。

特点：液体，溶于 PBS 中，已过滤，适于细胞转染后的阳性筛选。浓度为 50 mg/ml，规格为 20 ml。

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/gene/080917/index.htm>

第二名：Ambion 的 Tri-reagent 4.1 折

上榜理由：Ambion 作为 RNA company，其高品质的 RNA 产品一直受到研究人员的热捧。Tri-reagent 与 TRIzol 类似，能高效提取总 RNA。100ml，原价 1898 元，现价 788 元，折扣低至 4.1 折，比 TRIzol 可便宜多了。

特点：

- 高效提取总 RNA，也能提取 DNA 和蛋白质
- 产量更高，超越传统的异硫氰酸胍法
- 适用于各种来源的样品，不论是组织、细胞、细菌、真菌、病毒都可使用

- 没有上样量限制，更灵活

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/genetimes/080819/Ambion.htm#01>

第三名：GE Healthcare 的 PCR 产物纯化及胶回收试剂盒 5 折

上榜理由：买一送一，相当于 5 折。原价 \$211（100 次），现价 \$211（200 次），以 1:10 的比价计算，单次反应的价格在 10 元人民币左右，直逼国货价格。而且这种实验室最常规产品，多买几个屯着也不错。

特点：

- 多功能——同时适用于 DNA 溶液和 DNA 琼脂糖凝胶两种不同的样品，洗脱体积 10-50ul 不等
- 可靠——有效去除 PCR 混合液中的各种 dNTPs 和引物
- 高质量——高纯度的 DNA 产物适合克隆和测序等多种下游实验
- 简单、灵活

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/ge/080905/index1.htm#02>

第四名：GE Healthcare 的 Vivaspin 浓缩系列 5 折

上榜理由：买一送一，相当于 5 折。蛋白超滤浓缩中的明星产品。以 100-500ul 规格的 Vivaspin 500 计算，原价 \$ 142（25 个），现价 \$ 142（50 个）。单个 Vivaspin 500 的价格为 \$ 2.84，折合人民币约 28.4 元。

特点：

- 同一样品管中，一步浓缩样品，减少操作及样品损失
- 专利的 dead-stop 技术，防止样品变干，保证样品直接浓缩回收
- 分子量截留范围可由用户自行选择
- 可兼容 1-9 的 pH 值范围

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/ge/080905/index1.htm#02>

第五名：Stratagene 的 PfuUltra II Fusion 高保真聚合酶 6 折

上榜理由：原价 1927 元（40 次），现价 1156 元（40 次），单次价格为 28.9 元。虽然看上去挺贵，不过这可是世界上保真度最高的酶了，测序绝对不会出错。

特点：

- 保真度最高的 PCR 酶，是普通高保真酶的 3 倍，Taq 酶的 20 倍
- 延伸速度达 15 秒/kb，是普通高保真酶的 4 倍
- 热启动，特异性更高

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/genetimes/080819/stratagene.htm#02>

第六名：GE Healthcare 的 Ficoll & Percoll 7 折

上榜理由：细胞分离中的明星产品。

特点：

- Ficoll Paque PREMIUM 能从外周血、骨髓及脐带血中分离制备人单核细胞，内毒素含量低（<0.12EU/ml）
- Percoll Plus 适于分离各种细胞、细胞器及病毒，无菌，内毒素含量低

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/ge/080905/index2-1.htm>

第七名：Roche 的蛋白酶抑制剂混合片 7 折

上榜理由：complete 蛋白酶抑制剂混合片——roche 最受欢迎产品之一。联合磷酸酶抑制剂一起 7 折促销，订货超过 2000 元还可以得到限量版袋鼠宝宝一个，建议赶快下手，9 月底就结束了。

特点：

- 使用便捷：全新 EASYpacks 包装，只需将片剂溶解在缓冲液中，不必繁琐的称量、混合及 DMSO 溶解；另有针对不同来源细胞裂解使用的 cOmplete Lysis，使用更方便
- 安全：无毒片剂可直接溶解在水性溶液中，避免了有机溶剂的使用（例如：DMSO）
- 保护蛋白免受蛋白酶和磷酸酶作用：蛋白酶抑制剂混合片和 PhosSTOP 磷酸酶抑制剂混合片配套使用，全面保护您珍贵的蛋白

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/080815/index.htm>

第八名：QIAGEN 的 QIAgenes 预制蛋白表达载体 7 折

上榜理由：非一般的表达载体，专门为人
类蛋白在大肠杆菌、昆虫和哺乳动物细胞中的
表达而优化设计。9月30日前7折优惠

特点：

- 采用最权威的 Gene Optimizer™ 软
件，对 DNA 序列进行以下方面优化，包括密
码子优化、调整编码序列 GC 含量、最小化
mRNA 二级结构、避免重复序列、避免内部
核糖体结合位点等

- 经优化后的全长 cDNA 序列克隆到表达
载体，进一步经过序列验证，以确保序列的正
确性。确保优化序列在大肠杆菌体内或体外，
昆虫细胞，哺乳动物细胞体系中高效表达

- 直接获得优化和预制好的表达载体，省
去了传统流程中的文库筛选，PCR 扩增，亚
克隆，克隆筛选，测序等繁琐步骤

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/Qiagen/080828/index.html>

第九名：TaKaRa 公司的 DNA Marker 7 折

上榜理由：最畅销的 DNA Marker，不用
多说了，地球人都知道。除了 DL2000 和
DL15000 之外，最近还增加了 DL500、
DL1000、DL5000 和 DL10000。

特点：又便宜、又好用

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/TaKaRa/080829/index.html>

第十名：GE Healthcare 的标签蛋白纯 化柱和填料 7 折

上榜理由：蛋白纯化一向是 GE 的强项，
就是价格贵了些，现在有 7 折优惠，正是入
货的好时机。

特点：

- 丰富多样，包括 His、GST、MBP、
Strep(II)系列产品

- His-tagged 凝胶填料为市面上最高载
量，是一般产品的 4.5 倍！极低 Ni²⁺脱落

- 含 PreScission 酶位点的 GST 标签蛋
白，可实现柱上一步去除 GST 标签，改进蛋
白稳定性

- MBP、Strep(II)凝胶可用 0.5M NaOH
处理，非常容易再生及放大

链接：

<http://www.ebiotrade.com/custom/ge/080905/index2-1.htm#02>

更多更新的特价信息，请看生物通的特价
专栏。（生物通 余亮）

Invitrogen 将扩增专利 授权给 QIAGEN 等



Invitrogen 公司近日宣布已与 NEB、QIAGEN、KPL 公司签订了非独家协议。根据协议的内容，这三家公司获准使用 Invitrogen 专利的随机引物扩增核酸的技术。协议的金融条款没有公布。

协议覆盖的技术包括大量扩增核酸的方法和试剂盒。它对很多常用的实验室技术都很有用，包括随机引物标记反应，第一链 cDNA 合成、和全基因组扩增。

Invitrogen 基因表达图谱的副总裁 Amy Butler 表示：“我们的随机引物扩增技术是遗传分析中的一个重要工具。通过许可使其他公司也拥有这项技术，则受益的研究者会更多，并将推动这个快速增长的研究领域。”

关于 Invitrogen

Invitrogen 公司竭诚为全球的科研和政府研究机构、药厂和生物公司提供产品和服务，旨

在改善人类的现状。这个公司提供了用于疾病研究、药物开发和商业生产的必要生命科学技术。Invitrogen 自身的研发力量主要集中于在生命探索的各个领域包括功能基因组学、蛋白质组学、干细胞、细胞治疗和细胞生物学中开拓创新，使 Invitrogen 的产品能够遍布全世界的所有实验室。Invitrogen 成立于 1987 年，总部设在加州的 Carlsbad，在 70 多个国家设有办事处。这家公司拥有约 4700 名科学家和其他专业人员，2007 年收入约 13 亿美金。更多信息请访问 www.invitrogen.com。

（生物通 余亮）

美国 BD 公司扩建碧迪中国苏州工厂

全球医疗科技巨头，美国 BD 公司(Becton, Dickinson and Company)，于 9 月 2 日宣布扩建其在中国的重要生产基地—碧迪中国苏州工厂，这是一项十年的长期规划，将耗资约三亿人民币，并在未来 3 年内，实现 BD(碧迪)公司在华医疗器械生产产能的翻番。这是继 2006 年 6 月 BD 公司在苏州建立流感和病毒感染快速诊断产品基地之后在中国的又一重大举措。



据悉，碧迪苏州工厂完成 3 年扩建计划后，两个厂区总面积将接近 3 万平方米，并新建近 5000 平米的 10 万级净化间，是原来的 2.5 倍多，并增加世界领先的半自动输液治疗系统生产线和全自动安全型产品生产线。届时，碧迪苏州工厂将成为亚洲地区产能最大的世界级医疗器械生产基地，实现中国制造的医疗器械在亚洲、欧洲，拉丁美洲和北美洲的全球范围覆盖。在更长远的 10 年规划里，碧迪将落实后续投资，10 年后，厂区员工总数将达到 2000 多人。

在工厂扩建奠基仪式上，苏州碧迪医疗器械有限公司暨碧迪苏州工厂厂长林明德特别强调：“新厂扩建将重点发展下一代医疗安

全产品，让碧迪医疗器械这一全球核心技术更好地服务中国病患和医护人员，提升中国医疗工业总体水平。”自 1998 年引入特别根据中国护士单翼持针的操作手法而设计的

Intima-II 留置针后，碧迪持续发展静脉留置针系列产品。新型的软导管静脉注射方式，不仅提高了穿刺成功率，还能预先连接输液器排气，密闭设计使穿刺时没有血液渗出，保证医护人员免受血液污染。林厂长说：“利用扩建契机，碧迪将提供更多具有创新医疗技术的产品，包括一次性使用静脉留置针第二代

(Insyte) 和第四代 (Intima-II)、一次性使用真空采血针组件 (BCS)、一次性使用肝素帽 (PRN)、一次性使用麻醉穿刺包 (AS



TRAY) 及新一代一次性使用自毁型注射器 SoloShot™ IX等。”

碧迪中国区总经理林伶女士在奠基典礼后的采访中重申碧迪对中国的承诺,碧迪将不断拓展在亚洲与中国的发展,和中国的各级政府及医疗卫生组织通力协作,将最新的医疗技术引入中国;不断致力于开发和提供包括教育、培训和产品在内的创新解决方案以满足中国市场的医疗需求。她还表示,碧迪中国将朝着充分实现精益生产的理念努力,并向国际医

药领域展现中国生产的世界一流的安全医疗器械。

尽管静脉留置针在美国已经使用长达40年之久,普及率达到95%,但是在当今的中国市场上,依然有相当数量的静脉注射器针头由钢针制成。由于静脉留置针可以有效保护医护人员避免注射以外的血液污染,提高穿刺成功率高,提高穿刺成功率高,并保障长达96小时的静脉注射,减轻病患痛苦,它必然会成为中国静脉注射方式的发展趋势。

康宁宣布与 HighRes 生物 解决方案公司签订商业协议



作为拥有 90 多年历史的科学实验室及新药开发相关产品的全球供应商，[康宁公司](#)（纽约证交所代码：GLW）2008 年 9 月 4 日宣布与马萨诸塞州 Woburn 市的 HighRes 生物解决方案公司签订商业协议，合作开发创新性生命科学用耗材，从而满足中高通量药物筛选客户的需求。HighRes 生物解决方案公司是一家针对高通量筛选（HTS）的高端自动化技术领先厂商，根据协议约定，最新开发的下一代生命科学用耗材将由康宁独家生产与销售，但是市场推广由两家公司共同进行。预计这一创新性的产品将于 2009 年第一季度面世。

康宁生命科学部业务总监 Robb D'Amore 指出：“不论我们通过自己的研发投资还是与像 HighRes 这样的行业领先公司进行合作，我们都将持续为我们的客户提供最先进的技术，从而帮助他们推动研究与实验成果。通过这项协议，我们与 HighRes 公司可以将各自在 HTS 市场上的相对优势进行互补，进而推出独一无二的新一代中高通量解决方案。我们的 HTS 客户可以在 2009 年年初获得第一批产品，为此我们感到非常兴奋。”

“与康宁这样的行业巨头进行合作对我们来说是一个很好的机会，” HighRes 生物解决方案公司首席执行官 Lou Guarracina 说道，“康宁的行业知识与广泛的分销网络，再加上我们在 HTS 市场上的现有关系，我们将开启一个全新的客户群。”

关于康宁公司

康宁公司（<http://www.corning.com>）是特殊玻璃和陶瓷材料的全球领导厂商。凭借

着 150 多年在材料科学和制程工艺领域的知识，康宁创造并生产出了众多关键组成部分，这些组成部分被用于高科技消费电子、移动排放控制、电信和生命科学领域。我们的产品包括用于 LCD 电视、电脑显示器和笔记本电脑的玻璃基板；用于移动排放控制系统的陶瓷载体和过滤器；用于电信网络的光纤、光缆、以及硬件和设备；用于药物开发的光学生物传感器；以及用于其它一些行业，例如半导体、航空航天、国防、天文学和计量学的先进的光学和特殊材料解决方案。

关于 HighRes 生物解决方案公司

HighRes 生物解决方案公司（<http://www.highresbio.com>）是一家为药物公司、生物技术公司以及大学实验室设计生产自动化平台系统与设备的领先公司，我们的产品加速了通过高度灵活、开放且可靠的集成系统进行药物开发的进程，我们通过便于配置（以及改装）的台式设备与生命科学用耗材来创造有助于实现突破性成果的研究环境。