EBIOTECH

生物通技术周刊

第33期
2008年7月23日

[技术前沿]

生物通2008技术点评：流式细胞分选

专家指南：如何从FFPE样品中提取DNA?

Affymetrix生物芯片技术平台和最新芯片设计

mRNA的组成、选择性剪接和全转录本表达谱芯片(Affymetrix)

[新品速递]

从水样中分离宏基因组DNA的新方法

[应用指南]

ReNcell VM神经干细胞系成为帕金森氏症研究的理想模型

抛砖引玉:Affymetrix芯片应用案例

[行业动态]

Invitrogen与Active Motif将合作分析新一代测序数据

Sigma-Aldrich公司收购澳大利亚JRH Bioscience公司

罗氏以1.25亿美元收购RNAi和基因治疗公司Mirus

罗氏欲以437亿美元收购Genentech，对方嫌少

赛默飞世尔科技将2008年度生物治疗贡献奖授予法籍女科学家

主办：生物通 www.ebiotrade.com

EBIOTECH

2008年8月1日第三十五期
www.ebiotrade.com

一、技术前沿：

生物通 2008 技术点评：流式细胞分选

专家指南：如何从FFPE样品中提取DNA？

mRNA 的组成、选择性剪接
和全转录本表达谱芯片(Affymetrix)

二、新品速递

从水样中分离宏基因组DNA的新方法

三、应用指南

ReNcell VM 神经干细胞系
成为帕金森氏症研究的理想模型

抛砖引玉:Affymetrix芯片应用案例

四、行业动态

Invitrogen与Active Motif将合作分析新一代测序数据

Sigma-Aldrich公司收购澳大利亚JRH Bioscience公司

罗氏以 1.25 亿美元收购RNAi和基因治疗公司Mirus

罗氏欲以 437 亿美元收购Genentech，对方嫌少

赛默飞世尔科技将 2008 年度
生物治疗贡献奖授予法籍女科学家

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

生物通 2008 技术点评：流式细胞分选

流式细胞仪（Flow Cytometer）是一种在功能水平上对单细胞或其他生物粒子进行定量分析和分选的检测手段，可以每秒钟分析上万个细胞，并能同时从一个细胞中测得多个参数。其应用范围非常广泛，而且还在不断增加。当然，细胞分选也是它的重要应用之一。它能够根据每个细胞的光散射和荧光特征，将特定的细胞从细胞群体中分选出来。每次一个细胞。所以人们又常常将流式细胞仪称为荧光激活细胞分选仪（fluorescence-activated cell sorter, FACS），其实 FACS 并不是流式细胞仪的通称，它是 BD 公司的注册商标。

细胞分选的原理

当经荧光染色或标记的单细胞悬液放入样品管中，被高压压入流动室内。流动室内充满鞘液，在鞘液的包裹和推动下，细胞被排成单列，以一定速度从流动室喷口喷出。在流动室的喷口上配有一个超高频的压电晶体，充电后振动，使喷出的液流断裂为均匀的液滴，待测细胞就分散在这些液滴之中。将这些液滴充以正、负不同的电荷，当液滴流经过带有几千伏的偏转板时，在高压电场的作用下偏转，落入各自的收集容器中，没有充电的液滴落入中间的废液容器，从而实现细胞的分离。

流式细胞分选的特点

1. 少量细胞分选时，流式细胞分选精确度高（99%以上），速度快。目前，先进的流式细胞仪的分选速度可达 25 000 个细胞/秒以上，比传统的分选速度提高了很多倍，原来需要一天的工作现在只需要几小时就能完成。不过流式细胞仪分离细胞的量还是有一定的限制，一次分离的最大合理量约为 108 个细胞。如果细胞量超过 109 个，则需要耗费 10 小时以上，分选后细胞的活力会受到很大的影响。

2. 可以同时进行多个 Marker 分选，正选负选同时进行。以前的流式细胞仪只能给液滴充上正电荷或负电荷，因此在电场中只能向左或向右偏转，即两路分选。现在的仪器可以给液滴充以不同的电量，从而调整液滴的偏转角度，实现多路分选。BD 的 FACSAria 流式细胞仪就可以进行四路分选。

3. 不仅仅限于表面抗原，流式细胞仪可以根据任何能检测到的发光度（如细胞体积）或荧光（如 DNA、RNA 或蛋白含量，酶活性，特异抗原）散射度差异来分离细胞。如果能保证流式细胞仪的无菌状态，那么分选后的细胞还可以进行培养或其他分析。

4. 如果只是偶尔做几次细胞分选的话，用流式分选还是比较划算的，只需要准备样品和抗体，交纳一定的仪器使用费即可，不需要购买配套的设备。

流式细胞仪

由于价格的原因，大家对流式细胞仪一直是心有余而力不足，但现在它也开始进入一些大型实验室了。市场上销售的流式细胞仪产品种类很多，主要生产厂家有：BD、Beckman Coulter、Partec、Accuri Cytometers、Guava、Union Biometrica、Amnis 等，大家比较熟悉的还是 BD 和 Beckman Coulter。

BD 公司一直致力于研究生产最先进的流式细胞仪。自从 1974 年与美国斯坦福大学合作研制出全球第一台流式细胞分析仪以来，BD 公司就不断推陈出新，在流式细胞技术领域始终保持领先地位。BD 公司的 FACSAria 流式细胞仪，更是世界上第一台使用石英杯流动池固定光路标准，可以完成高速细胞分选的台式流式细胞仪。它的高速细胞分选和多色分析的性能极佳，而操作却非常简单。

由于 BD FACSAria 流式细胞分选仪的出现，高速细胞分选的设置和操作变得极其简单。BD FACSAria 先进的仪器设计大大提高了分选性能，同时还增强了其它功能。在普通的空气中液流受激光激发的流式细胞分选仪中，液流高频振动常常会产生信号噪音，而 BD FACSAria 则完全消除了这一弊端。BD FACSAria 产生液滴的高频振动发生在石英杯流动池的底部喷嘴处，也就是在样本与激光的正交点之后，这样就不会干扰激光与样本流的聚焦，因而不会产生干扰噪音。去除了这种噪音，检测就更加准确和灵敏了。

BD FACSAria 流式细胞仪的喷嘴与石英杯底部精确吻合，保证液流垂直进入下面的废液吸引器。喷嘴位置是固定的，更换喷嘴后，液流仍然会保持在原来的正确位置上。喷嘴拆换简便、精确。

BD FACSAria 流式细胞仪可以使用 70 μm 或 100 μm 的喷嘴，满足了绝大多数细胞分选的需要。喷嘴适合在各种不同的压力和速度下进行细胞分选。两路分选和四路分选是标准设计，分选时可以使用各种大小的细胞收集管（例如小管、12X75 mm 管和 15 mL 管）。配件自动细胞定位分选装置（ACDU）可以将定量细胞定位分选在微孔板或载玻片上。BD FACSAria 流式细胞分选仪的性能非常灵活，为流式细胞分选提供了完整的解决方案。

与传统细胞分选仪器相比，BD FACSAria 流式细胞仪的集成设计减小了仪器体积，节省了整个使用空间。实际上，该仪器可以在任何空间里安装工作，不需要其他辅助设备。仪器可以放在普通的实验室平台或桌子上，唯一需要的是一个标准电源插孔。这样就更增加了它的亲和力。

Beckman Coulter 也提供了两种强大的细胞分选系统。他们的 CyAn ADP 流式细胞仪使用 3 种激光，可实现 9 色分析。高速的电子和 Summit 软件的使用可以有效处理 1×108 个细胞的样品，来分析那些稀有事件，如肿瘤干细胞研究。另一个 MoFlo XDP 流式细胞仪分析速度为 100 000 个细胞/s，分选速度为 70 000 个细胞/s，并且能在高产量的同时保留细胞的活力和功能。这台仪器也具有四通道分选能力，并且分辨率极高，能够让研究者们更好的鉴定和分选他们感兴趣的细胞群体。

细胞分选的新进展

1. 突破分选大小的限制。许多人利用流式细胞仪只要是分选普通培养的哺乳动物细胞，直径一般不超过 20 微米。但随着流式细胞仪的应用越来越广泛，分选细胞的大小也不应成为限制。美国 Union Biometrica 公司就提供了市面上唯一的能够分选 20-1500 um 生物颗粒的流式细胞仪 COPAS™系统。COPAS（Complex Object Parametric Analyzer & Sorter）可以分选线虫，果蝇、水螅、蟾蜍、蚊子、斑马鱼的卵和幼虫。COPAS 技术的核心，是专利的气流分选装置。这种分选方式非常温和，可以保证收集到的生物活体的活性和完整性，对于后续的培养和分析不会

产生任何负面影响，而普通流式细胞仪一般采用电磁场进行分选，会对生物活体产生致命的影响。

以前这种类型的分选是在显微镜下用镊子操作的，所以 COPAS 系统的出现对于科学家来说是个好消息。现在发育生物学家就能利用 COPAS 来分选几千条幼虫，来寻找概率很低的遗传变异。你也可以利用它来筛选药物化合物文库。将药物分布在微量滴定板中，每个孔中再放 10 条线虫。孵育之后通过 ReFLx 附件将每个孔的东西逐个吸出，再送回流动室中重新分析。

2. 在分析的同时成像。普通的流式细胞术无法观测细胞形态、结构，无法定位荧光信号到特定部位，但是现在这也不再是问题了。美国 Amnis 公司提供的 ImageStream 100 系统就很好地解决了这一问题。它将流式多色检测技术和荧光显微镜图像显示技术集中在一个平台上，提供了全新的细胞分析方法。ImageStream 系统通过明视野、暗视野、荧光的组合，可以得到每个细胞的 6 张图像。此外，他们还提供 ImageStream 光学系统的升级——EDF（extended depth of field）配件，可以增加图像的质量，确保整个细胞清晰。EDF 使成像速率快了三倍，不仅提高了成像的质量，还具有共聚焦显微镜的优势。这种能提供图像的流式细胞仪在临床上也有重要作用，可以用高通量荧光原位杂交来检测血液中的肿瘤细胞，比现在的方法灵敏多了。

3. 流式的新帮手。以前，人们只是利用流式细胞仪来看细胞的免疫表型。现在，我们当然不满足于这个，我们还想了解更多复杂的细胞过程，如细胞增殖、活力、凋亡和钙流量。新的荧光染料、新的荧光探针、新的染色方法不断推出，使得新的细胞参数的分析也日益增多。

应用活细胞进行分析是流式细胞术的一个趋势。研究者们往往利用流式细胞仪收集某种细胞群体，然后将其回输到体内，来观察生理上的变化。Invitrogen 就提供一种 Vybrant® DyeCycle™染料，能在活细胞中进行细胞周期分析。这种染料毒性极小，分选出的细胞还能用于后续的研究，如干细胞鉴定或细胞治疗。BD 公司也提供了观察不同细胞群体的工具。Phosflow 细胞信号抗体可以让研究者们在一个复杂的多样群体中研究特异表型的细胞，并在单细胞水平上检测多个蛋白的激活状态。

附录：BD 流式试剂选择及常见问题解答

一、如何搭配流式抗体荧光标记

流式抗体荧光标记搭配主要由 3 个因素决定的：流式细胞仪能检测多少个通道、需要同时检测检测多少个指标、厂家的抗体有多少种荧光标记。如果流式细胞仪的通道越多，那么同一份样本能同时做的表面/胞内标志就越多

A、 如何根据流式细胞仪搭配流式抗体

1） BD 流式细胞仪（06 版目录第 614 页）

流式细胞仪能检测多少个通道是由有多少根激光决定的以及每根激光的功能决定的，所以首先需要注意两点：

流式细胞仪有哪些激光。比如标配的 FACSCalibur 只有一根 488nm 的激光，能做 FL1、FL2、FL3 三个荧光通道/三个颜色，而选配的 Calibur (FACSCalibur 的简称)配有 488nm 和 635nm 两根激光，可以检测 FL1-FL4 四个通道/4 个颜色。

不同型号的流式细胞仪的同样的一个通道检测荧光素的能力是不一样的，比如Calibur 的 FL3（第 3 通道）能检测 PE-Texas Red, PE-Cy5, PerCP, PerCPCy5.5,PE-Cy7, 而 Aria 的第 3 通道只能检测 PE-TexasRed, PE-Cy5, PerCP。Calibur 第 3 通道能检测的 PerCP-Cy5.5 在 FACSAria 上是第 4 通道检测。Calibur 和 LSR 都能检测 4 个颜色，但是第 4 个通道检测荧光素是不一样的

搭配荧光素原则

搭配流式荧光素有 2 个原则：每个通道只能选择 1 种荧光素；各个通道之间的荧光素可以随意搭配，但需注意

1、每个通道只能选择 1 种荧光素。以 Calibur 为例说明，Calibur 的 FL1 通道选择了 FITC 就不能选择 AlexaFluro488，或者选择了 Alexa Fluro488 就不能选 FITC Calibur 的 FL3 通道尽管能检测 PE-Texas Red, PE-Cy5, PerCP, PerCP-Cy5.5, PE-Cy7 五个荧光素，但是我们我们搭配的时候只能选择其中 1 个。

2、各个通道之间的荧光素可以随意搭配：如果客户的流式细胞仪能做 4 个通道，在第 1 个原则之下，那么每个通道随便选出 1 个荧光素就可以组合成 4 个颜色。以 2 跟激光的 Calibur 为例，Calibur 各个荧光素之间可以搭配出 16 种组合。

比如常用的搭配是 F I T C(F L 1)＋P E（F L 2）＋PerCP（FL3）+APC(FL4), 这个搭配组合可以更改成 Alex Fluro(FL1)＋PE（FL2）＋PerCP（FL3）+APC(FL4), 或者 FITC(FL1)＋PE（FL2）＋PerCP（FL3）+Alex Fluro(FL4)，或者 FITC(FL1)＋PE（FL2）＋PE-Cy5（FL3）+APC(FL4)等等。总之，在第 1 原则之下，我们可以随意搭配和组合各个荧光素。但是需要注意的是，APC 和 PE-Cy5 一起使用的话，上流式以后，容易导致补偿过度

B、 BD 公司抗体有多少种荧光素

1） 供应商能提供的每种抗体的荧光素是不一样的我们需要根据同时结合供应商能提供的每种抗体的荧光素进行搭配。原则上同一个标志的不同的克隆号带同 1 个荧光素在应用上没有区别的，但是有些不同克隆号的抗体之间可能会有一些稍微的差异，需要仔细看说明书。我们可以尽量选择在说明书上有流式图形的抗体，或者选择荧光素种类最多的克隆号的抗体

2） 荧光素

可以登陆 www.bdbiosciences.com/spetra，输入荧光素和检测的 BD 流式细胞仪机型及激发光，就可以查到相应的波长。

为什么要推荐使用 Alex Fluro488 和 Alex Fluro647 呢？

因为这些荧光非常明亮，对激光非常稳定，适合流式细胞仪的光谱性质，对 PH 值不敏感，具有水溶性。此外，他们联合使用时发射光谱存在巨大差异，无需补偿。

C、如果检测的指标数目超过了流式细胞仪的通道，怎么办？

如果需要做 5 个指标，而流式细胞仪只能做 4 个通道，首先将指标归成 2 类，再将样本分成 2 份，分别检测。比如需要同时检测 CD3、CD4、CD8、IL-4 和 IFN-gamma，那么将样本分成两份，第 1 份加 CD3、CD4、CD8 和 IL-4，而第 2 份加 CD3、CD4、CD8 和 IFN-gamma。

二、同型对照（Isotypy Control）

1、为什么要用同型对照？

同型对照是使用与一抗相同种属来源、相同亚型、相同剂量和相同的免疫球蛋白及亚型的免疫球蛋白，用于消除由于抗体非特异性与细胞结合而产生的背景染色。同型对照是真正意思上的阴性对照，它不但可以用来设定流式细胞仪的电压，而且还可以帮忙省去昂贵与繁琐的重组细胞因子竞争封闭步骤。在流式细胞仪上样前，染色方式如下：

样本管：一抗＋样本

同型对照管：同型对照＋样本

2、如何选择同型对照？

一般选择与一抗的成分完全相同种属来源、相同亚型和亚链、相同荧光标记的抗体，比如抗人的 CD56 APC 标记的抗体，货号是 555518,成份是 Mouse IgG1,κ。那么它的同型对照应该是 APC 标记的 Mouse IgG1,κ，货号是 555751。注意同型对照的成份跟它的名称是相同的.如果是抗体的组合形式是纯化的一抗＋荧光标记的二抗，那么应该选择一抗的同型对照。比如 CDw125 的纯化抗体，货号是 555901，成分是 Mouse IgG1,κ。它的同型对照是纯化的 Mouse IgG1,κ，货号是 555746。它的二抗 PE 标记的抗小鼠 IgG1,货号是 550083。那么染色方式如下：

样本管：纯化的 CDw25＋PE 标记的抗 Mouse IgG1＋样本

同型对照管：纯化的同型对照＋PE 标记的抗 Mouse IgG1＋样本

如果没有找到适合的同型对照，在保持来源相同、荧光标记相同、免疫球蛋白类别相同条件下，那么优先选择的顺序应该是亚链不同——亚型不同——相同类别。比如，某种的抗体的来源是 Mouse IgG2a,κ。如果在同型对照表里面找到不到完全相同的同型对照，那么优先选择相同荧光标记的 Mouse IgG2a 为同型对照。如果也没有找到 Mouse IgG2a，那么优先选择相同荧光标记的 Mouse IgG2b 作为同型对照。如果最后还是没有找到 Mouse IgG2b，那么选者相同荧光标记的 Mouse IgG2 作为同型对照。

3、如何查找同型对照？

同型对照在 BD 英文目录中或者 BD 网站上跟它对照的抗体的位置是一致的。BD 目录中，抗人的抗体的同型对照都在 HUMAN 章节后面。抗小鼠的抗体的同型对照在 MOUSE 章节后面，非人类灵长类的抗体同型对照在 NON HUMAN PRIMATE 章节后面。由于抗大鼠的抗体非常少，大部分抗体都是小鼠来源的，所以它的同型对照跟小鼠的一样，放在 MOUSE 章节后面。胞内细胞因子、趋化因子、补体、炎症介质及其受体的同型对照放在其章节的后面（注意：人的胞内细胞因子的同型对照跟人的表面标志的同型对照是不在一起的）。Phosflow 的同型对照在 Phosflow 的介绍后面。比如，比如抗人的 CD56 APC 标记的抗体，货号是 555518，在 06 版 BD 目录的 169 页，成份是 Mouse IgG1,κ。那么它的同型对照应该是在 HUMAN 章节中 Mouse Immunoglobulin Isotype 表格中，第 191 页，APC 标记的 Mouse IgG1,κ，货号是 555751。

4、哪些客户需要使用同型对照？

A 对流式不是非常熟悉的客户。

B 做胞内流式客户，比如胞内细胞因子、趋化因子和信号蛋白等。

C 使用不常见的标志或者特异性不高的标志的客户，因为客户不熟悉不常见标志的表达情况，根据同型对照可以判断阳性细胞的位置。一些特异性不高的抗体，如多抗，非特异性结合非常多，使用同型对照可排除假阳性。

D 对流式非常熟悉又使用常用的表面标志的客户一般可以不使用同型对照。

5、为什么有时候同型对照的表达会比抗体的表达高？

首先需要检查同型对照的抗体是否加错类型、剂量等。其次，因为有些标志在细胞的表面或者胞内表达不高，而跟其类似的抗原非常多，那么加入同型对照时，同型对照非特异性的结合会超过抗体的特异性，所以会造成这种现象，在细胞表面时如图所示。这个时候推荐使用其他阴性对照，如空白对照等。

三、补偿微球

流式细胞仪的荧光补偿隔一段时间之后需要调整到适合的位置。如果荧光补偿没有调节好，会导致细胞分群不明显或者流式检测得到的结果图非常不漂亮，而且会影响到检测结果的不真实。荧光补偿的调节对初学者来说非常不容易掌握，同时，补偿调节是流式细胞术中比较难掌握的操作。尤其是一些不常见的标志检测时，需要经验非常丰富的流式操作者根据多年的经验判断调节补偿，才可以得到比较好的数据和图片。那么，现在不需要这么麻烦。因为补偿微球让一切变得更简单。BD CompBeads 是专用于流式细胞仪多色分析的荧光补偿调整微球。它的实用性是在于克服了以往普通的做三色以上的流式分析时补偿难调、耗费样本（往往用待测样本单标来进行补偿调节）的缺点。它本身不携带任何荧光，借助于与客户自己的特异性荧光抗体孵育结合来调节补偿。它不但能象待测的样本细胞一样在同样的实验条件下固定、破膜等，操作起来很简单，灵敏度高，一致性好，使补偿更轻松更准确，而且最难得的是它最适合于多色分析（如五色、六色、七色等）和复合荧光素（如 PE-Cy7、APC-Cy7 等），因为这时的补偿往往难度较大。各型号的流式仪器均能使用。Compbeads 使用后可以将流式的条件保存，方便下次做同样的荧光染色搭配时参考用。

（生物通 余亮 吴青）

专家指南：
如何从 FFPE 样品中提取 DNA？

生物通编者按：世界上绝大多数的组织样品是使用福尔马林固定石蜡包埋(Formalin-Fixed and Parrffin-Embedded，FFPE)的方法处理的。要想提取出其中的核酸信息，相当有难度，因为 FFPE 样品中的 DNA 和 RNA 已经部分降解了，且 DNA 往往与组蛋白紧密交联。但是这个领域的科学家们也不是等闲之辈，他们近几年已经摸索出了更有效的方法。在此，生物通编译收集了多位专家在这方面的建议和小窍门，供您参考。现在，让我们来听听专家是如何说的。如果您在这方面有独特的心得体会，也欢迎与我们分享。

我们要讨论的四个问题如下：

Q1：Do you pre-treat your samples prior to extraction?

Q2：What extraction method do you use to isolate DNA from the tissue? How long do you incubate and what buffer do you use?

Q3：How do you optimize the efficiency of DNA extraction? What do you consider a good yield?

Q4：How do you determine the quality of the DNA extracted? What degree of fragmentation is acceptable?

问题一：在提取前需要预处理样品吗？

Sunil Badve 印第安那大学药学院

除了在最低温度融化石蜡外，我们什么也不做。

MARK Bouzyk 爱默里大学（EMORY UNIVERSITY）药学院

我们通常收集 5um 切片，放入 2ml 螺旋管中。一般每次处理 3-6 个切片。有时候我们也用 1mm 组织芯。开始，我们用二甲苯在 50 度处理 3 分钟，去除切片上的石蜡，然后用乙醇洗涤两次去除二甲苯。

Susan Long 俄亥俄州立大学医学院

玻片用二甲苯脱蜡，再用乙醇漂洗后，取 10um 未染色切片。风干后用手术刀刮下来浸在消化液中，然后放入装有 Qiagen ATL 缓冲液和蛋白酶 K 溶液的试管中。

Jeffrey Mason 美国国防病理中心

对于 FFPE 组织切片，有两种预处理方法。第一种方法是，将这些组织（10-50mm 切片）用二甲苯孵育，再用浓度逐步降低的乙醇洗涤（100%、90%、70%），再用 PBS 缓冲液水合。这个步骤也略有不同，比如乙醇的浓度或 1M 硫氰酸钠水合过夜。第二种方法是，将这些组织（10-20mm 切片）置于缓冲液中，在 120 度孵育 20 分钟，然后冷却到室温。缓冲液包含 28.6mM 的柠檬酸、磷酸钾、硼酸和巴比妥，用 NaOH 调节 pH 值到 9。这种预处理的方法还能使你省去下面 DNA 提取过程中的酶消化步骤。

问题二：你使用哪种方法从组织中提取 DNA？孵育多久？使用的是哪种缓冲液？

Sunil Badve 印第安那大学药学院

我们用的是 Qiagen 的 DNeasy，或类

似的产品。

Carol Barone 杜邦儿童医院

我们将 FFPE 样品切割成 10um 大小，放在 Eppendorf 管中，而不是把样品磨碎。分子诊断实验室向管中加入 300ul histo-clear 来脱蜡（室温 5-10 分钟），并离心。重复三次，抛弃 histo-clear 和石蜡。用 100%乙醇室温水合。离心，倒出乙醇，重复三次。再加入 300ul 裂解液、1.5ul 蛋白酶 K，孵育 3 小时。在必要时重复或孵育过夜。分子诊断实验室用的是 Gentra 的操作步骤，唯一的不同是切割样品而非磨碎。

Mark Bouzyk 爱默里大学（EMORY UNIVERSITY）药学院

样品脱蜡后，我们就会消化 DNA 上的结合蛋白。由于 DNA 往往会与组蛋白紧密交联，我们推荐用 Ambion 的蛋白酶和消化液在 50 度孵育至少 48 小时。我们试过许多试剂盒和操作步骤，觉得还是 Ambion 的 RecoverAll Total Nucleic Acid Extraction Kit 比较好用。对于 DNA 的分离和纯化，我们利用的是 Ambion 专利的分离液和过滤器，洗涤和洗脱液，并按照它们的步骤操作。整个手工操作过程约为 45 分钟。如果是高通量分析，RecoverAll MagMAX Custom Kit 可能更为理想。

Susan Long 俄亥俄州立大学医学院

我用的是 Qiagen 的 QiaAMP DNA Micro Kit 来分离 DNA。首先用 QiaAMP ATL 消化液和蛋白酶 K 溶液在 65 度孵育样品，至少是过夜，最长可达 48 小时。然后在提取前再加入一定量的蛋白酶 K，并孵育几小时。

Jeffrey Mason 美国国防病理中心

从 FFPE 样品中提取 DNA 的最关键步骤就是消化蛋白。蛋白酶 K 是最常用的蛋白酶。消化/裂解缓冲液中通常是含有 10-20 mg/ml 蛋白酶 K 的 Tris 缓冲液。一般还会添加 10%的 SDS。组织置于消化液中，在 55 度孵育 24 小时，然后 95 度 5 分钟失活蛋白酶。

再将酚/氯仿/异戊醇（25/24/1）加入消化液中，通过离心回收上清。然后再在上清中加入氯仿，并离心，小心去除上层的水相。再加入小体积的 3M 醋酸钠和异丙醇沉淀 DNA。如果 DNA 的量很少，还可以加入糖原帮助沉淀。沉淀的 DNA 用乙醇洗涤，干燥，用 20ul 或 50ul 水或缓冲液来溶解。要想使 DNA 完全溶解，可能需要孵育过夜。

问题三：你如何优化 DNA 提取的效率？你认为怎样才算是好的产量？

Sunil Badve 印第安那大学药学院

延长蛋白水解酶的作用时间。大于 100 ng/ul 就算是好的产量吧。

Mark Bouzyk 爱默里大学（EMORY UNIVERSITY）药学院

提取过程的关键是蛋白酶消化要持续 2-3 天。我们发现如果只消化几小时的话，提取的效果就不大好。根据我们的经验，好的产量是从 3 个 5um 切片中得到 1-3ug 的 DNA。当然，这在很大程度上是由切片本身的质量来决定的。

Susan Long 俄亥俄州立大学医学院

你必须确保这些组织在上 QiaAmp 柱之前，已经消化完全了。从 10-20 个小的组织切片（小于 5mm2）一般能得到 5-10ug 的 DNA，而 3-5 个大的组织切片（大于 5mm2）的 DNA 产量一般在 40ug 或更多。

Jeffrey Mason 美国国防病理中心

提取效率与蛋白酶K消化步骤密不可分。延长消化时间能改善DNA的回收率以及片段的平均长度。蛋白酶K的消化步骤最多可延长到5天，每天加入新的消化液。如果组织还没有完全溶解的话，就要继续消化。最后结果应该是表面光滑的半透明溶液，看不到任何微粒。孵育时间也取决于组织。例如，低密度组织(肺)所需的孵育时间就比高密度组织(心脏）少。

我认为好的产量应在200-500 mg/ml。DNA浓度可以通过吸光度或荧光分析来测量。

问题四：你如何确定提取的DNA的质量？你可以接受的片段化程度？

Sunil Badve 印第安那大学药学院

A260/A280在1.7与1.9之间。我们没有考虑它的片段化程度。

Mark Bouzyk 爱默里大学（EMORY UNIVERSITY）药学院

我们通常使用PicoGreen来测定DNA的数量和质量。我们大部分的下游分析是Taqman或单碱基延伸基因分型，所以500bp左右的片段都是可以接受的。但有时可能需要更长的片段（比如Illumina Infinium就需要2kb），我们推荐用Agilent的生物分析仪来测量片段化大小，与常规的凝胶电泳相比，它需要的样品量很少。

Susan Long 俄亥俄州立大学医学院

我是通过Nanodrop分光光度计来检测浓度和260/280比值的，然后进行PCR。通常我只需要能扩增出200-400bp的片段就行了。

Jeffrey Mason 美国国防病理中心

我们利用两种方法来估计DNA的质量。第一种是在70度变性DNA，然后取200ng去跑1%的琼脂糖胶，来确认大小分布。大小应该是分布在100bp到3000bp之间。如果用蛋白酶K消化6天以上，还可以看到更长的片段。第二种方法是通过实时定量PCR来估计DNA的质量。我们会用3-4套引物及1-2个探针来扩增看家基因GAPDH或b2微球蛋白。

对于实时定量PCR而言，100bp到3000bp的DNA片段就能得到一个理想的结果。如果是要做芯片研究的话，可能需要更长的片段。

从上面他们的谈话中，你可以看到样品不同，下游的分析不同，从FFPE样品中提取DNA的步骤也会有所差异。希望你能从他们的经验中汲取精髓，摸索出最适合你的DNA提取方法。我们还挑选了一些相关文献，帮助你优化实验。

（生物通 余亮）

mRNA 的组成、选择性剪接和全转录本表达谱芯片(Affymetrix)

众所周知，信使 RNA(Mrna)是一种生命周期很短的分子，它可以将细胞核以 DNA 形式储存的遗传信息转移到细胞质中，然后将这个信息翻译成蛋白质。mRNA 生成涉及两个步骤：转录和 RNA 处理。

转录的过程就是以一个 DNA 分子的一条单链作为模板，通过 RNA 聚合酶来指导互补 RNA 链合成的过程。加强对可能转录方式的理解，例如 3'末端不确定的转录本、截短转录本、转位、没有多聚一腺苷酸（PolyA tail）的转录本，对于获得涉及到整个基因组们眯转录活动的完整情况至关重要。

在真核生物中，从 DNA 转录这一过程中而得到的超始 RNA 产物（最初转录本）含有内含子和外显子。最初转录本要经历一个 RNA 处理过程来形成具有生理功能的活性的 RNA 种类——功能性 RNA。RNA 处理包括主要的 3 个方面是 5'端加帽、切割和 3'端加多聚腺苷酸尾，以及 RNA 选择性剪接。选择性剪接是高等真核生物蛋白质多样性的主要来源，经常是以发育阶段特异性或者组织特异性方式进行调节。目前估计大约有 40%—60%的人类基因具有不同的异构体形式。同一基因来源剪接异构体可以产生在特征上有明显区别、功能上差异显著（甚至是具相互拮抗的）的蛋白质。此外，涉及到人类疾病的大量遗传突变被定位在可调节剪接的剪接信号或者序列上。因此，对剪接方式改变的理解在深入探讨生物调节和疾病机制方面尤为重要。

传统的 3'端表达谱芯片仅仅能对标准转录本进行有效的分析。全转录本表达谱芯片（Exon 1.0 ST 和 Gene 1.0 ST）则是强有力的工具去检测转录方式的可能性。而其一的 Exon 1.0 ST 芯片更可以获得与选择性剪接相关信息，进而可以进行（1）选择性剪接调控的分子机理分析。（2）药靶基因的新型选择性剪接异构体的发现，以及获得其组织特异性表达图谱。（3）增进对遗传性变异所导致的下游效应的理解，从而可以将选择性剪接方式同生物表型变化联系起来。

表达谱芯片实验和数据分析流程

与传统性 3'端表达谱芯片相比，全转录本表达谱芯片实验的特点为：1）RNA 的启始用量大幅度的下降（推荐采用 100ng 或 1ug Total RNA）。2）如用 EXON 1.0 芯片，流程要求有 rRNA 消减步骤，用以降低背景信号以及提高特异性（用 Gene 1.0 芯片时省略 rRNA 消减步骤）。3）与 3'端表达谱芯片步骤类似—Cdnal 链、2 链合成及体外转录（IVT），区别在于全转录本表达谱芯片体外转录合成 cRNA 并不对其进行标记。4）其后部分步骤是全转录本芯片所特有的：通过随机引物来合成掺入了 dUTP 的正义连 DNA，水解 cRNA 模板后对正义链 DNA 进行片断化和标记。5）随后完成同样杂交、洗涤和扫描等一系列流程以获得到结果。

从水样中分离宏基因组 DNA 的新方法

Epicentre 最近推出了宏基因组 DNA 分离试剂盒（Metagenomic DNA Isolation Kit for Water），能从水样中分离已随机剪切的，可直接用于 fosmid 克隆的 DNA 片段。

利用 fosmid 克隆系统的宏基因组文库构建是探索环境微生物的理想选择。Fosmid 克隆系统通常使用随机剪切的 DNA，这种方法与限制性酶切相比序列覆盖度更好。但传统的文库制备方法步骤繁多，需要琼脂糖凝胶块、随机剪切、末端修复，还要通过脉冲场电泳（PFGE）来进行大小选择，然后再克隆到 fosmid 载体上、包装、铺板（如下图中的传统方法），整个过程大约需要一周的时间。在宏基因组 fosmid 文库构建过程中，关键是 1) 必须得到足够量的高分子量 DNA；2) 通过机械剪切及脉冲场凝胶电泳产生 40kb 左右的片段。然而这个过程通常需要 3 天，并导致大量样品损失。

Epicentre 的新试剂盒则提供了一种全新的方法（如下图中的新方法）。它能从水样中的培养或未培养微生物（包括革兰氏阳性菌）中提取出 40kb 大小的 DNA。提取的 DNA 可立即进行末端修复，并在乙醇沉淀洗涤后克隆到 Epicentre 的 pCC1FOS 载体上。整个过程两天就能完成。

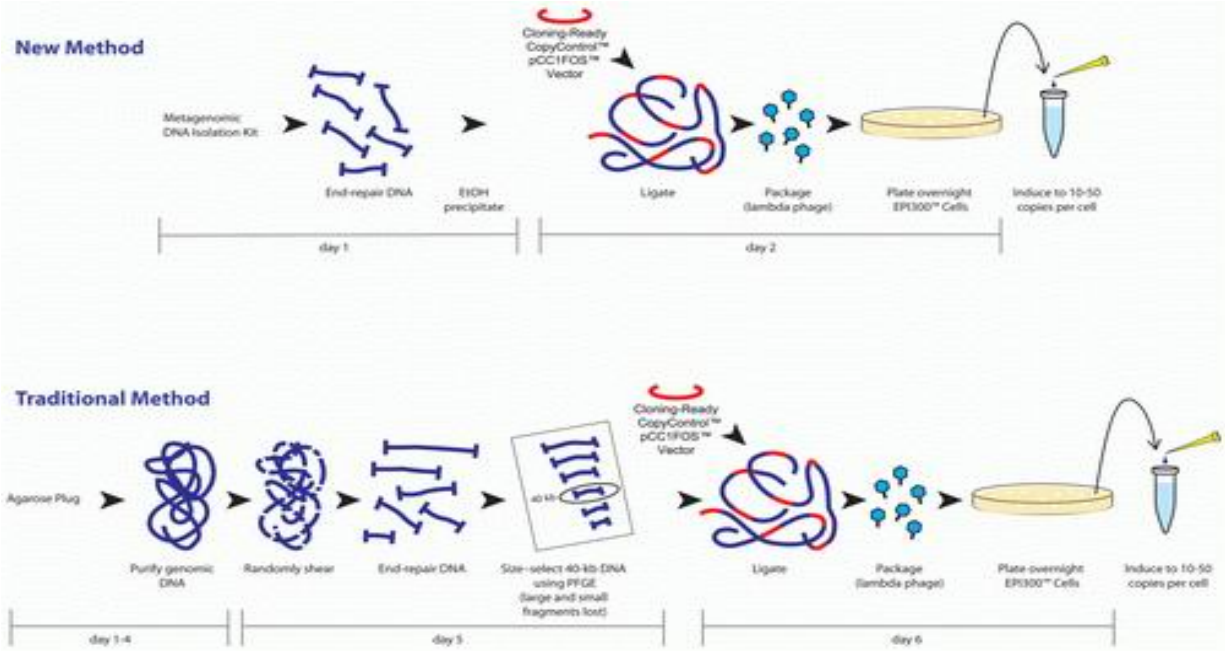
优势：

• 无需化学剪切、琼脂糖块或大小选择

• 无需纯化柱或酚/氯仿提取

• 产量更高，从低丰度的微生物中回收 DNA 的概率更大

• Fosmid 载体与 DNA 的克隆只需要 90 分钟



ReNcell VM 神经干细胞系成为帕金森氏症研究的理想模型

Millipore 公司近日宣布了一项源于 ReNcell VM 神经干细胞系的新发现。这项研究首次确立了 PINK1 基因与神经变性之间的功能联系，文章发表在《PLoS ONE》杂志上。

过去已经发现家族帕金森氏症的某种形式与 PINK1 基因变异有关，但是这个基因和疾病在机理上的关系还没有确立。伦敦分子神经科学研究院 Nicholas Wood 实验室的科学家通过抑制神经元中的 PINK1 基因，发现该基因功能的缺失会导致程序化细胞死亡增多、自由基增加、神经元的长期存活率下降、以及帕金森氏症的其他一些症状。ReNcell VM 细胞作为分化的神经元的便利来源，为帕金森氏症研究提供了一种有价值的、生理上相关的工具。

ReNcell VM 神经干细胞系是由 ReNeuron 集团开发的，现在由 Millipore 独家销售，供全世界神经生物学家和干细胞研究人员使用。作为首个推出的人类神经祖细胞系，ReNcell VM 细胞能迅速分化成三种神经细胞-神经元、星形胶质细胞和少突胶质细胞。这种细胞系生长良好，能在优化的无血清培养基中保持其多潜能性，因此是研究分化通路的理想模型。

最近，Millipore 还推出了 Mobius MIX500 一次性搅拌器，容量达 500 升。它的磁力驱动的漂浮叶轮能显著减少颗粒生成，使培养基和缓冲液制备零风险。MIX500 搅拌器还可以与一系列 Mobius 处理容器、Lynx 连接器、Opticap 过滤器和管道共同使用，组成完整的一次性解决方案。Mobius 一次性混合系统是制药公司混合制药配料、中间产物和最终药物的理想选择。

Millipore 从一个只提供高品质过滤产品和服务的公司，逐步发展成为生命科学工具和服务的领先供应商，并成为生命科学用户信赖的重要合作伙伴。我们通过研发投资，有机增长，和收购如 Chemicon、Upstate、Linco、Celliance、Newport BioSystems、NovAseptic AB 和 Microsafe 等公司来不断进行转变。整合后的 Millipore 提供了更多革新的技术和更强的应用支持，来简化处理流程和提供可靠的结果。我们生命科学部门的资深科学家深谙生命科学研究的复杂性，能在细胞生物学、干细胞、蛋白研究和信号转导等最具挑战性的领域为客户提供支持。

关于 Millipore

Millipore (纽约证交所代码：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。

（生物通 余亮）

抛砖引玉:Affymetrix 芯片应用案例

全基因组关联（GWA）研究是一种鉴定与常见人类疾病相关基因的有效方法。WTCCC 采用了 500K 芯片在英国人群中进行联合 GWA 研究，检测了七种主要疾病（每种疾病 2，000 个病人）和 3，000 个共享正常对照个体。病例-对照对比后鉴定了 24 个独立的关联性信号（P<5x10-7）；双极燥郁症 1 个，冠心病 1 个，克罗恩病 9 个，风湿性关节炎 3 个，I 型糖尿病 7 个，II 型糖尿病 3 个。基于先前的研究发现和目前已经完成的重复性研究，显示几乎所有的这些信号都反映了真实的易感性效应。在大多数已鉴定的位点处观察到的适度效应大小说明拥有一批适当规模的样品是非常重要的。该研究是至今完成的最大的 GWA 研究和对 GWA 方法的一种全面验证。

Redon 等用两种不同的芯片平台（昂飞 500K 芯片和 Whole Genome TilePath）分析了 270 个正常个体内的拷贝数变异，研究发现 CNV 在人类多样化和进化中非常重要。CNV 区域比 SNP 包含更多的核苷酸内容。在 HapMap 人群中已识别 1447 个 CNV 区域，这些区域覆盖了 12%的人类基因组（360MB）。CNV 在人类生物学和病症中非常重要。CVN 区域包含成百上千的基因、功能要素和分段重复序列。CNV 在遗传研究中非常有价值，可作为 SNP 的补充信息。HapMap 人群中的许多 CNV 中存在大量的 CNV 型变异和明显的连锁不平衡。

Smyth等采用了全基因组非同义SNP（nsSNP）扫描方法研究了剩下的I型糖尿病（T1D）易感性位点，该方法使用了高度多元化、高通量的分子倒置探针（MIP）技术。研究以有说服力的统计学支持，表明在染色体 2q24.3 先天免疫病毒RNA受体基因区域 IFIH1（又被称为mda-5 或Helfcard）存在第六个I型糖尿病（T1D）相关位点。在对全基因组非同义SNP（nsSNP）扫描的期中分析中，研究发现了这一相关性，并在病倒一对照群体中对其进行了了确证，最后还在一个独立的家系群体中进行了重复性实验。对 4，253 个病例，5，842 个对照和 2，134 个父母-孩子的三口之家的基因型进行检测发现，nsSNP rs1990760 A-G(A946T)的次要等位基因的风险率是 0.86（95%置信区间 =0.82-1.90），$P=1.42x10^{-10}$。

线粒体的体细胞性突变在人类的癌症中较为常见，所以可以将它用途检测早期癌症的工具。Maitra 等开发了一种线粒体客户定制的 ReseqTM 芯片，将其作为基于芯片的测序平台，快速且高通量地分析线粒体 DNA。该研究对多个个体总计超过 200 万碱基对的线粒体 DNA 进行测序，成功地读取了 96.0%的核苷位置，重复实验显示了>99.99%的重现性。在 5 个膀胱癌患者和 4 个胰腺癌患者的配对流体取样样品中（分别用尿液和胰液），MitoChip 在 9 个样本的 6 个中（66%）检测到了至少一个癌症相关的线粒体突变。MitoChip 是一款高通量的测序工具，可以从一些临床样本的主要肿瘤中可靠地鉴定线粒体 DNA 突变。

在癌症分子分型研究方面，早在 1999 年，Golub 在 Science 杂志的文章中表明，他的研

究小组使用昂飞生物芯片，在鉴定癌症种类以及肿瘤分型方面取得了重大进展。Golub 等在没有获得白血病病倒背景信息的条件下，通过昂飞表达谱生物芯片，针对急性巨核细胞白血病（acute myeloid leukemia）和急性淋巴细胞性白血病（acute myeloid leukemia）的可能性进行了预测性分析。研究结果表明，单纯依赖基因表达芯片生物检测来对癌症进行分型是具有可行性的。这类研究提出了一条不依靠早期生物学一表型的癌症类型预测和鉴定的策略。T. R. Golub.,et al., Molecular Classification of Cancer; Class Discovery and Class Prediction by Gene Expression Monitoring. Science 15 October 1999: Vo1. 286. no. 5439, pp. 531-537.

Kimchi 等学者使用人类基因组 U133A 芯片发现了与停产癌发病机理相关的一个新通路。他们对正常食道上皮、巴瑞特组织（Barret）变形和食道腺癌所采样本进行评测，发现有 214 个基因标记可用于区分三种样品型。他们的数据显示从巴瑞特氏食道转化为腺癌与表皮分化复合物相关的基因抵制有联系。对于在巴瑞特氏食道和腺癌中都有表达的基因进行相关分析可进一步发现 21 个可代表潜在遗传标记和治疗干扰的药物靶标的基因。

在植物学基因组研究方面，昂飞芯片也有广泛的使用。Plant cell 杂志曾经报道过 Caldo 等研究人员利用昂飞公司含有 22，000 个大麦基因的表达谱芯片对植殊基因型、小麦白粉菌（Bgh）及时间之间 36 个组合的相互作用进行了基因表达谱分析，深入研究了植物抗病原体感染的分子机制。通过比较植物通用感染抗性和特定感染抗性之间的关系，作者诊断在病原体相关的通用识别和特定识别之前存在着联系，并且提出证据支持下面这个假说：病原体对植物基本防御的抵制这一善能被宿主识别和防止，并从这个基础进化出了宿主特异性抗性。

在应用全转录本表达谱芯片的研究中，虽然此类新型芯片推出的时间还不长，但是有很多科学家利用其得到了许多激动人心的成果。荷兰 Erasmus 医疗中心 French 等研究者最近使用人类 Exon 1.0 芯片对两种不同类型的神经胶质癌症进行了了剪接异构体表达特征分析，已得到了突破性的结果。他们发现肿瘤中大约有 20%的突变引起了外显子跳跃；在不同的个体中会观测到外显子跳跃这一现象的发生；那些相关基因的测序结果表明存在着同外显子跳跃现象相关的突变。这些发现指明了一个新的研究方向；导致疾病相关剪接异构体发生的基因可能会成为癌症治疗的药靶目标。

QIAgene 预制蛋白表达载体
——解决人类蛋白表达的瓶颈难题

申请最新版QIAGEN蛋白研究相关技术手册>>

■QIAgenes 预制蛋白表达载体

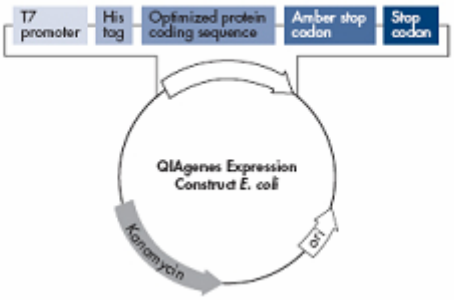
QIAgene 预制蛋白表达载体（QIAgene Expression Kit）是QIAGENE和GENEART合作推出，专门针对35，000个人类基因所设计，目的在于解决人类蛋白表达瓶颈难题。为优化*E.coli*中人类蛋白表达所设计。采用最权威的Gene Optimizer™ 软件，对DNA序列进行以下方面优化：消除稀有密码子而利用最佳密码子，调整编码序列GC含量，最小化mRNA二级结构影响，避免重复序列和内部核糖体结合位点影响化等。

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*E.coli*体内或体外，昆虫细胞（Coming soon），哺乳动物细胞（Coming soon）体系中高效表达。

QIAgene 预制蛋白表达载体提供整套解决方案，包括QIAgenes Expression Construct *E. coli*, positive control, Penta-His Antibody以及Ni-NTA Spin Columns.

■QIAgenes 表达载体结构

◇含有T7启动子，可直接在BL21（DE3）等菌株或利用无细胞系统进行表达（如EasyXpress *E. coli*-based kits）
◇N端带有6×His标签，在Ni-NTA上进行一步亲和纯化，利用TAGZyme™ 可去除6×His标签
◇可表达无标签蛋白，利用Nde I酶切，再连接去除His标签
◇C端内置琥珀终止密码子，可利用EasyXpress Site-Specific Biotin Kit进行生物素标记
◇卡那霉素抗性用于筛选



■QIAgene表达载体有效提高蛋白产量

对表1中100种DNA序列优化前后的表达结果进行比较，结果表明，使用QIAgene大于 90% 的蛋白被成功表达(膜蛋白占60%)，产量比未经优化序列提高50倍。且无论在*E. coli* 体内，体外系统中均能得到最优表达(图2):

表 1 DNA 序列优化实验

Protein class	Number of proteins investigated
Kinases	15
Membrane proteins	30
Transcription factors	20
Ribosomal proteins	15
Cytokines	15
Others	5

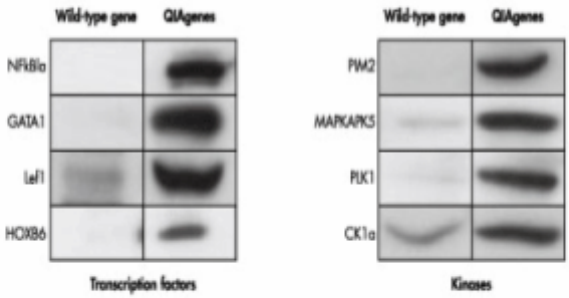


图 2 未优化序列与 QIAgene 优化序列表达水平比较。利用 EasyXpress 体外表达系统进行蛋白表达，Ni-NTA 纯化后，利用 Penta.His 抗体检测表达水平

凯杰生物技术(上海)有限公司
电话:+86-21-386503865 技术支持热线:800-988-0325 E-mail:techservice-cn@qiagen.com http://www.qiagen.com

Invitrogen 与 Active Motif 将合作分析新一代测序数据

Invitrogen 和 Active Motif 今天宣布，他们将合作探索如何利用现场可编程门阵列（FPGA）技术来分析新一代的测序数据。

Active Motif 推出的 TimeLogic 生物计算系统，整合了 FPGA 加速器和优化的基因组学算法，能将新发现的数据与已经鉴定的基因进行快速比较，帮助科学家们发现序列数据的价值。TimeLogic 系统的处理速度相当于几千个 CPU，然而却非常省电，只需要很简单的维护，并能通过软件升级来延长产品的使用寿命。

Active Motif 的 CEO-Joe Fernandez 表示，这次结盟旨在探索如何利用 Active Motif 的技术来加速处理新一代测序仪产生的大量数据，以及评估科研和临床的最优计算方案所需的物理需求，如功率消耗、冷却、数据传送和空间限制等。

关于 Active Motif

美国 Active Motif 公司成立于 1999 年，是一家致力于细胞、分子生物学研究工具以及生物计算系统的开发和生产的专业公司，让科学家能够探索基因、蛋白和代谢途径之间的关系。Active Motif 总部设在美国加州的 Carlsbad，在日本东京和比利时布鲁塞尔设有办事处。更详细的信息请访问：www.activemotif.com和www.timelogic.com。

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）

Sigma-Aldrich 公司
收购澳大利亚 JRH Bioscience 公司

Sigma-Aldrich 公司宣布：Sigma-Aldrich 公司完成对澳大利亚 JRH Bioscience 公司的整体收购，收购后的 JRH 成为 SAFC Bioscience 的一员（SAFC Bioscience ： Sigma-Aldrich 公司旗下品牌之一)。

JRH Bioscience 公司是世界领先的细胞培养基和血清产品的供应商，年销售额达 1.5 亿美元。 SAFC Bioscience 在细胞培养及相关试剂生产领域具有超过 30 年的历史，始终为用户提供安全、有效和质量稳定得产品和服务，以帮助客户将产品加速推向市场。随着生物制药产业市场不断发展，Sigma-Aldrich 公司与 JRH Bioscience 公司的合并让我们更合理的使用各种资源来更好的满足客户对细胞培养产品需求，进一步巩固 Sigma-Aldrich 公司在生命科学高科技领域的领导地位。

关于 Sigma-Aldrich

Sigma-Aldrich 是全世界领先的生命科学与高科技集团公司。我们的生物化学与有机化学产品与试剂盒被广泛地应用研究于基因研究、生物科技、药物研发、疾病诊断及制药与其他高科技生产中。我们的用户遍及生命科学研究公司、大学与政府研究机构、医院与企业。超过一百万科学家与科研人员使用到我们的产品。Sigma-Aldrich 在 36 个国家与地区设有营运机构，雇员超过 7900 人，为全世界的用户提供优质的服务。 Sigma-Aldrich承诺通过在生命科学、高科技与服务上的领先优势帮助用户在其领域更快地取得成功。如需进一步了解Sigma-Aldrich，请访问我们的得奖网站：http://www.sigma-aldrich.com

关于 JRH Bioscience

澳大利亚 JRH Biosciences 公司是专业从事动物细胞培养基产品（cell culture media）的公司，产品包括传统培养基（DMEM、1640、MEM、M199）、无血清培养基（适用于 CHO 细胞、杂交瘤细胞、昆虫细胞等）和各种血清产品（澳大利亚及新西兰产地）产品包括：DMEM 培养基，1640 培养基，MEM 培养基，M199 培养基，无血清培养基，CHO 细胞培养基，杂交瘤细胞培养基，昆虫细胞培养基，JRH 胎牛血清，JRH 小牛血清，细胞培养添加剂：L－谷氨酰胺、水解乳蛋白、胰酶、促细胞生长因子。

罗氏以 1.25 亿美元收购 RNAi 和基因治疗公司 Mirus

罗氏和 Mirus Bio 公司今天宣布罗氏将收购全面 Mirus Bio 公司。后者是一家总部设在威斯康星州麦迪逊的私有公司，主要致力于探索和开发创新的核酸技术，包括专利的 RNAi 转运平台。

RNAi 是一种体内沉默某种基因的天然机制，它为难治愈的疾病带来了新的希望。这项技术目前遇到的最大挑战就是如何将 RNAi 分子准确运送到靶细胞。Mirus 的转运平台提供了一种创新的方法，能有效地对特定疾病靶点实施 RNAi 疗法。

罗氏的使命是为难治愈疾病的患者提供新的解决方案。RNAi 疗法有潜力治疗复杂的疾病如癌症、呼吸或代谢紊乱。在 2007 年，罗氏曾宣布与美国 Alnylam Pharmaceuticals 公司结盟，还收购了 Alnylam 位于德国的研究基地。这也就是现在罗氏开发 RNAi 治疗药物的卓越中心（Centre of Excellence）。

罗氏制药研究的全球总裁 Lee E. Babiss 表示，Mirus 的科学家在 RNAi 转运方面的开拓性研究，加上我们的 RNAi 研究卓越中心，将使罗氏站在新疗法的最前线。我们的全球研究团队在推进 RNAi 治疗方面已经取得了很大的进步，这些新同事将使我们如虎添翼。Mirus 带来的技术以及其他技术会让我们创造出更有效的 RNAi 疗法。

Mirus 总裁 Russell R. Smestad 表示，罗氏在 RNAi 领域的技能、资源和承诺，使它成为 Mirus 的理想伙伴。我们的联合将大大加速研究进程。

根据协议的条款，罗氏将以 1.25 亿美元全面收购 Mirus，并保留麦迪逊的 RNAi 研究中心。Mirus 的转染试剂业务将拆分成独立的业务，称为 Mirus Bio LLC，对现有的客户没有任何预期影响。交易的完成时间将取决于标准条件，预计将在 2008 年下半年结束。

关于 Mirus Bio 公司

Mirus Bio公司是RNA干扰和基因治疗领域的领先者。该公司的Dynamic PolyConjugates技术改良后能成为siRNA疗法的平台。在基因治疗方面，该公司通过专利的Pathway IV hydro- dynamic delivery平台开发了全新的人类疗法。主要项目是与Transgene S.A.合作开发的肌肉萎缩症治疗。另外，Mirus还推出了最先进的DNA和siRNA转染、标记产品。更详细的信息请访问 www.mirusbio.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。

下接 P21 页

罗氏欲以 437 亿美元收购 Genentech，对方嫌少

瑞士制药巨擘罗氏公司周一宣布，将以 437 亿美元收购其美国合作伙伴 Genentech 所有已发行股票，以巩固其在癌症药物方面的地位。在此之前，罗氏已持有该生物技术公司 55.9％的股票。

罗氏在声明中表示，将以每股 89 美元的价格收购 Genentech 资产持有者的股票，较该公司上周五股票收盘价溢价 8.8％。罗氏预期合并后的公司每年大约产生 7.5 亿至 8.5 亿美元的税前成本协同效益。

罗氏表示，受到流行性感冒药剂 Tamiflu 销售影响和美元疲软的冲击，其上半年净利润下降 2％至 57.3 亿瑞士法郎（56.2 亿美元）。

声明中称，合并后公司每年收入将超过 150 亿美元，美国雇员总数将达到 25000 人。但 Genentech 现有 10700 名雇员将保留多少，声明中并没有具体说明。

Genentech 公司是美国历史最久的生物技术公司之一，成立于 20 世纪 80 年代。其研究重点主要放在肿瘤学、免疫学、组织生长与修复紊乱的基础和应用研究。也是目前规模和实力仅次于安进（Amgen）的世界第二大生物技术公司。Genentech 的抗癌药物非常畅销，包括 Avastin、Herceptin 和 Rituxan。

自 1990 年以来，罗氏一直是 Genentech 的合作伙伴。罗氏董事长 Franz Humer 表示，罗氏多年来对 Genentech 的投资帮助其聚焦于创新和长期项目，使其在癌症和其他致命疾病的治疗上取得重要突破。

Genentech 公司 21 日研究了罗氏的收购提议后，其投资者明确表示，这位瑞士制药业巨头应该支付更多。

许多华尔街分析师认为，罗氏的报价不能反映 Genentech 畅销药品的利润潜力。但也有分析师表示，罗氏作为 Genentech 的大股东，已不太可能出现其他大型制药公司参与竞争，因此罗氏不需付出太大的代价来完成收购，预计最终可能以每股 100 美元完成收购。

罗氏已表示会采取行动，包括将其美国贸易总部从新泽西州迁至 Genentech 的旧金山办公地区。另外，罗氏一份声明中表示，合并之后的公司在市场份额上将成为第七大美国医药品公司，每年将会创造超过 150 亿美元的收入。罗氏董事局主席 Franz Humer 还表示将会裁员，但并未透露具体数字。

Genentech 发言人表示，猜测此次交易对公司的影响和意义，还言之尚早。

上接 P20 页

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 年研发投资达 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，请访问我们的网站www.roche.com。（生物通 余亮）

赛默飞世尔科技将 2008 年度生物治疗贡献奖授予法籍女科学家

2008 年 7 月 21 日，法国圣埃尔布兰 —— 服务科学，世界领先的赛默飞世尔科技，公布了该公司设立的 2008 年度生物治疗贡献奖的得主。

全体评委一致通过将这一第 11 届生物治疗贡献奖授予 Veronique Perrier 女士。Perrier 女士在法国蒙彼利埃的 INSERM 710 研究小组工作，她的研究课题是“基因治疗：对朊病毒引发疾病晚期治疗的有效策略：慢病毒载体和犬腺病毒的比较。

评委们在 5 月 13 日召开评审会议。像每年一样，参选者的排名是基于一定的标准包括创新性、可行性和竞争力。另外项目的科学目的，技术合理性和获得的初步成果也占很大比重。

本届大奖授给了一个创新的和有发展潜力的项目，是针对特别困难的治疗学领域的研究项目——由非常规因素诱发的神经退化疾病。该研究利用犬病毒的基因转移系统，这一系统被证明在神经元细胞中的转导效率特别高。评委们希望这一奖项能够真正帮助这位年轻的获奖者的未来科研事业。

授奖仪式于 2008 年 6 月 16 日在 GIENS 举办的第 7 届 SFTCG 年会上进行，Perrier 女士接受了 10,000 欧元的优胜者奖励。

这一奖项的设立，表明了赛默飞世尔科技公司致力于支持科学研究发展和提高生活质量的积极承诺。

关于赛默飞世尔科技

赛默飞世尔科技（Thermo Fisher Scientific）（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。公司年度营收达到 100 亿美元，拥有员工 33,000 多人，服务客户超过 350,000 家。这些客户包括：医药和生物技术公司、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 Thermo Scientific 和 Fisher Scientific 这两大品牌，帮助客户解决从常规测试到复杂的研发项目中所面临的各种分析方面的挑战。Thermo Scientific像客户提供了一整套完整的高端分析仪器、实验室设备、软件、服务、耗材和试剂，以实现实验室工作流程综合解决方案。Fisher Scientific 为卫生保健、科学研究，安全和教育领域的客户提供完整的实验室装备、化学药品、供应品和服务的组合。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，并提升客户价值，帮助股东提高收益，还为员工创造良好的发展空间。欲获取更多信息，请访问公司网站：www.thermo.com.cn