

EBIOTECH

生物通技术周刊

第45期

2008年10月29日

[技术前沿]

microRNA芯片实验选择

快速PCR之仪器篇

快速PCR之试剂篇

快速PCR之空手套白狼

[新品速递]

胰酶靠边站 温控的细胞培养表面问世

Millipore独家推出表皮角质形成细胞的3D培养基

Promega推出昆虫版的体外表达系统

奥林巴斯推出新款全智能型光学显微镜

[应用指南]

Waters发布快速检测三聚氰胺的方法

美国FDA发布婴儿配方乳制品中三聚氰胺的检测方法

[行业动态]

先下手为强 近期免费试用装汇总

哈佛干细胞研究所推出开放的干细胞网站

Invitrogen低调收购测序公司VisiGen

拜耳制药饮xCELLigence头啖汤

microRNA 芯片实验选择

microRNA (miRNA) 作为 21 世纪生命科学研究最为重大的发现, 已经在短时间内成为了世界顶尖科学家研究的焦点, 并迅速取得了令人瞩目的进展, 短短几年关于 miRNA 的研究报道已近 2000 篇, 并被《Cell》《Nature》等杂志大量收录。这些发现为我们勾勒了一个全新的、原本不为人知的基因转录后调控系统, 极大的扩展了人类对于基因调控方式的认识。miRNA 通过 RNA 干扰这种独特的方式影响着生命活动中的诸多方面, 包括肿瘤的发生、发展、耐药; 胚胎的分化、发育; 细胞的凋亡; 细胞抗病毒感染等方面, 以这些突破性进展为基础, 而且 miRNA 也已经成为科学研究的重要工具和多种疾病治疗的新手段。正是基于以上这些重大的意义, 在 miRNA 参与的 RNAi 现象被发现仅仅几年后, 其发现者安德鲁费里和克拉格米洛便获得了 2006 诺贝尔生理学医学奖, 这在科学界是十分罕见的。

目前 miRNA 研究的领域包括: 以发现新 miRNA 为目的的克隆鉴定工作; miRNA 生成、作用过程中的相关分子机制研究; 利用生物芯片平台研究 miRNA 表达谱并以此为契机探索 miRNA 的靶基因和功能 (miRNA 参与肿瘤转移和耐药, miRNA 对病毒感染的影响) 等。

由于 miRNA 本身分子片段小, 种类多, 丰度低, 要总览 miRNAs 的全局表达和相互关系、不同条件下表达差异、特别是与疾病的关系, 以及 miRNA 靶基因和功能研究等等, 芯片技术无疑是很好的选择。这一技术的原理是收集待测样品中的 miRNA, 与特定芯片上互补的探针杂交, 通常待测样品中的 miRNA 3'端会标记上荧光基团, 杂交洗涤后可扫描荧光强度, 大量数据处理后便可筛选出有显著表达差异的 miRNA。由于芯片技术采用大规模微阵列技术, 一张芯片上可以同时分析成百上千的探针, 大大提高了筛选的速度和通量, 因此是 miRNA 高通量研究的首选。而且由于 miRNA 芯片的高通量特点, 比较于 Northern 杂交, RT-PCR, 液相杂交等方法, miRNA 芯片技术是一种更理想的快速有效的检测 miRNA 表达图谱的方法。

miRNA 芯片技术首次被 Liu 等人报道用来检测 miRNA 在不同肿瘤细胞中的表达图谱——245 个哺乳动物的 miRNA 被检测, 结果的重复性很好, 而且被 Northern 杂交、RT-PCR 所证实。也有人利用这种技术比较了哺乳动物中 B 细胞淋巴瘤和正常细胞中 miRNA 的表达图谱, 为 miRNA 在肿瘤临床应用提出了新的思路; 还有科学家通过 miRNA 芯片检测了小鼠脑发育中 138 个 miRNA 基因的表达图谱。这些都说明了 miRNA 芯片技术的巨大潜力。

近期, 在对 HIV 病毒研究方面, 美国托马斯杰弗逊大学的研究人员就利用 miRNA 芯片发现了细胞 miRNAs 抑制了休眠原代 CD4+T 细胞中 HIV-1 的产生, 从而说明细胞中 miRNAs 对于 HIV-1 潜伏性至关重要, 也由此 miRNAs 方面的研究被认为可能可以成为一种根除 HIV-1 的新方法, 这篇文章发表在《Nature Medicine》上。

不过需要指出的是, miRNA 芯片方法并不适用于新 miRNA 的发现鉴定, 此类研究可能需要用到一些新技术, 比如 miRNA 研究奠基人新开发的

True 单分子测序技术 (TrueSingleMoleculeSequencing)，以及约翰霍普金斯大学等发现了新型分析技术：miRAGE 等。

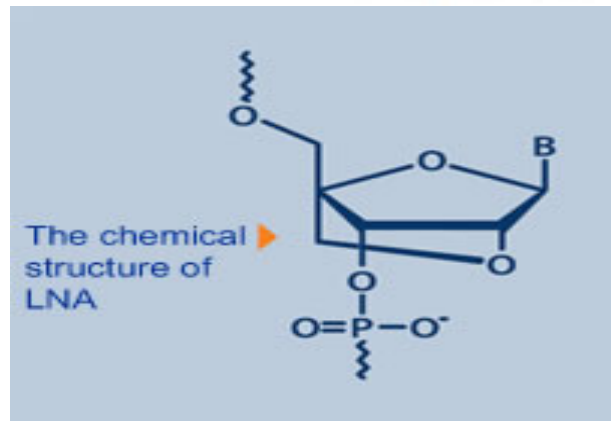
目前 miRNA 芯片不仅可以检测已知的成熟 miRNA，还可以通过定制检测预测的 miRNA、非编码 RNA 等，一些相关的配套服务也发展得很快，比如国内的康成和联川就是其中做的比较早的芯片服务公司。一些新上手的实验人员可能对一些基本的情况并不太了解，生物通特别在以下列出了一些相应的信息，希望能帮到有需要的研究人员。

如何选择芯片

目前市场上提供的 miRNA 芯片种类不少，如何选择成为了研究人员着手进行实验的第一道“门槛”，一般选择好芯片也就意味着确定了提取，标记等实验过程，接下来就可以按照 Protocol 一步步完成实验。那么各家芯片产品有什么特点呢？如何评价芯片质量和结果？如何结合自己课题的特点选择芯片呢？

区分能手

丹麦的 Exiqon 公司是一家在 microRNA 表达和功能分析领域具有领先地位的欧洲公司，他们的拳头产品就是 LNA™ 专利技术，这个 LNA 可不是什么低噪声放大器 Low Noise Amplifier，而是 Locked Nucleic Acid，即锁核酸，这种特殊的双环状核苷酸衍生物结构中含有一个或多个 2'-O，4'-C-亚甲基-β-D-呋喃核糖核酸单体，核糖的 2'-O 位和 4'-C 位通过不同的缩水作用形成氧亚甲基桥、硫亚甲基桥或胺亚甲基桥，并连接成环形，这个环形桥锁定了呋喃糖 C3'-内型的 N 构型，降低了核糖结构的柔韧性，增加了磷酸盐骨架局部结构的稳定性（见下图）。



由于 LNA 与 RNA 在结构上具有相同的磷酸盐骨架，故其对 RNA 有很好的识别能力和强大的亲和力。与其他寡核苷酸类似物相比，LNA 有很多优点：和 RNA 互补的双链有很强的热稳定性、实现探针高灵敏度；水溶性好，自由穿入细胞膜，易被机体吸收；体内无毒性作用；高效的自动寡聚化作用，合成方法相对简单，部分或完全修饰的 LNA 寡核苷酸链可用氨基磷酸法在 DNA 自动合成仪上合成。LNA 探针与核酸杂交具有严格序列特异性，能有效区分碱基错配从而实现高特异性。因此可以说是一种理想的 miRNA 捕获探针。

在此基础上建立的 miRCURY™ LNA 芯片在操作简便性，灵敏度等方面都具有优势，尤其是特异性方面，miRCURY™ LNA 芯片可以区分同源 miRNA，也就是说 miRNA 家族中即使是只差一个碱基的 miRNA，miRCURY™ LNA 芯片都能够把它们区分出来，这意味着用这个技术可以分辨出所检测的是具有生物活性的成熟 miRNAs 而非其前体，而且序列高度同源的 miRNAs 也被非常精确地区分开来。

Exiqon 的 miRCURT 芯片的 LNA 探针与普通 DNA 捕获探针相比，可提升溶解温度，自由设计 Tm 值，使得芯片上的所有探针 Tm 值均一化，所有 miRNA 杂交温度一致，保证对所有靶点具有相同的亲和活性。杂交温度高（60 度）避免非特异结合，标记无序列偏向性，效率高，无需富集

miRNA，因而在灵敏度方面，LNA 芯片可以检测常规 DNA 探针无法检测到的极其微量的 microRNA。其 454 个捕获探针包括与人(328 个)，小鼠(274 个)和大鼠(238 个) microRNA 精确配对的探针，对照探针以及错配探针，可以检测 Sanger miRBase 数据库 8.0 版中所有已知的人、小鼠、大鼠 microRNA，另外还有 Exiqon 芯片特有的 144 条 miRPlus 探针，而且每张芯片对同一样品重复 4 次，进一步提高了芯片的可靠性。这些都是 miRNA 芯片研究中需要注意的问题。

目前国内康成生物独家代理 Exiqon 的 miRNA 芯片已有三年了，不仅提供相关产品，而且技术人员还可以帮助完成实验操作，只要提供给他们完好的组织或细胞样本，就可以拿到完整的实验报告。

全能管家

LC Sciences 公司(联川)的 miRNA 芯片有两大卖点，一是探针信息随 Sanger miRBase 数据库实时更新，刚刚在 9 月全球首推最新 Sanger 12.0 版 microRNA 探针信息，其标准 microRNA 微阵列芯片可对最新版数据库报道的包括人、大鼠、小鼠、斑马鱼、鸡、猪、水稻、玉米、拟南芥、病毒等在内的所有单个物种或是同类物种组，如哺乳动物、植物等的 microRNA 进行检测，并提供完整的数据分析。Sanger microRNA 数据库(miRBase) 12.0 版于 2008 年 9 月 1 日发布，最新版本报道了 8273 条成熟 microRNA 序列，新增 2062 条，是史上规模最大的一次版本更新。详细资料可参考生物通有关网页。另外客户可在标准微阵列上免费添加 100 条定制序列(不超过 25nt)。也可以自行定制任意 3918 个探针序列的芯片。

另外一个卖点是采用 μ Paraflo™ 微流体芯片技术——即在指头大小的微流体芯片上的纳升级微

室中合成探针序列。所谓微流体(微流控)，Microfluidics，是指把生物和化学等领域中所涉及的样品制备、生物与化学反应、分离、检测等基本操作单元集成或基本集成到一块几平方厘米的芯片上，由微通道形成网络，以可控流体贯穿整个系统用以完成不同的生物或化学反应过程，并对其产物进行分析的一个过程。由于有流体行为(属于物理学范畴)的加入从而使得这种芯片更节省试剂，缩短了时间，因此被称为微阵列芯片的延伸，也有人将微阵列称为第一代生物芯片，而将微流体芯片称为第二代芯片。在生物实验中，常常需要对流体进行操作，比如样品的制备，标记等都是在液相环境中进行的，如果可以将这些过程都集成在芯片上，那么实验所用的流体的量就可以从毫升，微升级降至纳升或皮升级了。 μ Paraflo™ 微流体芯片技术由数以千计的三维小室组成，样品容易分布均匀，是一个封闭的系统，因此不用担心空气的污染和荧光染料的氧化和衰退，自动化程度更高，更适合于高通量的应用。

μ Paraflo™ 专利的检测探针包含一段化学修饰过的编码区和一个延伸臂片段，专利的修饰技术不含常规化学修饰的“粘性”特征，可同时提高检测灵敏度和特异性，延伸臂可保持编码片段和片基的距离以减少杂交空间阻碍，调整每个探针的修饰数目可对 Tm 值均一化从而提供良好的杂交特性。微流体芯片技术和专利的探针修饰技术保证芯片检测的特异性，单碱基错配(1MM)能够使杂交检测信号至少会降低 30 倍，甚至 100 倍。检测极限经实验证实可小于 100attomole，检测动态范围不小于 3.5logs。

LC 芯片是采用原位合成技术(Photogenerated acid 结合传统 DMT 化学)而非点样，便于精确控制探针浓度(一致性好)，有很高的灵活性，比如可以随意增加预测 miRNA，或者对序列探针采用 Walks 步移的方式来筛选发现

新的 miRNA, 有助于通过不同物种 miRNA 序列来确定物种间的保守 miRNA! 这种芯片可以对序列探针低系统噪音保证显著性表达差异数值的真实性。同一样品双色标记实验呈现出极佳的相关性。LC 芯片上每个探针至少有 3 个重复 (标准人类 miRNA 芯片 5 个重复)。微阵列合成有严格的质控, 每个微阵列实验都含有 16 组均匀分布的控制探针用于整个实验过程的质控, 与两个分别标记 Cy3 和 Cy5 的测试 DNA Oligos (包括匹配和单碱基错配) 杂交, 通过检测信号来评估杂交一致性和特异性, 确保同型芯片点与点协方差小于 15%, 以及完全匹配/单碱基错配的探针信号比值大于 30。

LC Sciences μ Paraflo 是 LC Sciences 公司与 Atactic Technologies 公司联合开发出的一种新型芯片技术, 是一种全能性芯片, 必须通过他家的服务完成标记, 清洗, 杂交等过程, 无需自己摸索实验条件---你不能亲自操作, 也不能单独购买芯片---嗯? 感觉不太好? 不过你可以有更高层次上的主动---可以参与设计, 既可以在标准芯片上自行设计 100 个以内的探针, 也可以 3918 个探针全部自己设计定制! LC 芯片适合利用这种技术进行设计分析, 而不愿意花费太多时间在操作芯片实验上的“思考型”研究人员。

因此, 除了精心设计好可以免费添加的 100 个探针, 你只需要提供 0.5ug-10ug 的总 RNA (10ug 最好啦), 或者纯化的小 RNA 样品 (<300bp) 0.5ug-2ug, 不需标记或者扩增 (联川采用放大信号而不是扩增的方法检测少量的 miRNA), 交给国内的联川生物就可以了等结果了。当然, 样品 RNA 的纯化是有点讲究的, 这个生物通在后文中会提到。

如何进行 miRNA 芯片实验

miRNA 芯片实验主要步骤是选择芯片 (或者定制, 自制), 样品 RNA 提取, 标记和杂交, 结果扫描和分析。

1. 选择芯片

由于 miRNA 的特殊性, 商品化芯片或者知名厂家定制芯片是首选。特别是当前 miRNA 芯片产品设计已经相当灵活和可以实时更新的情况下。因为自制产品毕竟不如商业化产品标准化, 在这个“同行评议”高于一切的学术圈, 恐怕难以得到多数顶级刊物的认同。而一篇文章发表在什么地方, 对文章的身价影响有多大, 乃至对作者的职称经费和各色评选的影响, 就不用多说了吧。另外一个方面, 假阳性也就罢了, 后继的试验还可以剔除, 最多就是浪费了感情和精力和试剂, 如果因为自制产品不过关而漏掉了某些重大成果, 岂不是要嚎啕? 因此, 有条件的还是尽量选择比较成熟的现成商品和配套服务为好。生物通前面介绍的 3 种产品均已经有文献在各类顶级刊物发表 (就是说产品可靠程度已经得到顶级刊物评委认同啦)。

定制芯片

众多的学者, 各有不同的研究方向。标准商品化芯片有不少可以增加一些可以让用户自行设计的样品点。但是如果这些还是不能满足要求时, 那么灵活多选的定制芯片也许能满足你的要求。

定制芯片的选择更多取决于探针设计。由于 miRNA 本身长度的原因, 成熟 miRNA 长度不超过 22 个核苷酸, 因此不可能随着熔解温度 (T_m) 调整探针序列, 这确实是 miRNA 芯片分析的一个大麻烦, 专业的商业平台有不同的方法以辅助解决这个问题, 比如 Agilent 的探针在 miRNA 互补区域就有一个 stem-loop 序列, 当 miRNA 进行杂交时,

就能利用 stem 的双区域增加了配对能量，完成要求更加严格的实验。而 Exiqon 的探针则相反，利用的是 LNA (locked nucleic acid)，这样可以使溶解温度升高，而且 LNA 与核酸杂交有严格的序列特异性，比普通寡核苷酸更有效地区分碱基错配。LC 的探针则有专利的修饰可以同时提升灵敏度和专一性，通过修饰个数的不同调整均衡 Tm 值。

LC Sciences 的最新 Sanger miRBase V12.0 版 microRNA 微阵列芯片检测服务，新增 2062 条 miRNA 序列信息，包括新增 15 个物种：10 种果蝇 (764 条)，鸭嘴兽 (331 条)，番茄 30 条，赤拟谷盗 45 条，和 2 种病毒。黑猩猩新增 495 条，人类新增 17 条 miRNAs，小鼠新增 16 条，拟南芥新增 3 条，水稻新增 84 条，红原鸡 326 条，目前联川生物提供了利用新增的 miRBase 探针信息设计和定制探针的服务。

除了生物通前面提到过的，还有先进通量公司的 CombiMatrix MicroRNA 芯片，这种芯片是建立在 CustomArray™ 4X2K 定制芯片的版本基础上的商品芯片，芯片产品包括物种类型有：人、大鼠、小鼠、线虫、果蝇、拟南芥、玉米等，这些芯片探针均来源于 Sanger Database (version 9.0)。芯片实验人员可以从 Sanger 9.0 database 中选择任何物种信息作为 MicroRNA 的内容来定制 CombiMatrix MicroRNA 芯片。

那么如果我的样品很珍惜又特殊呢？比如压根儿就不在 Sanger 数据库里的大熊猫或者华南虎、藏羚羊之类的 miRNA 芯片研究呢？哪来的商品化产品呀？那么问问联川生物或者康成生物吧！他们都可以提供或者代理原位合成芯片，大概可以按照你的设计帮你合成吧，只要你能付得起。也比自己合成 miRNA 自己点片要好。

Agilent 公司的 SurePrint 专利技术实现在 1" x 3" 的玻璃片基上灵活，大规模的原位合成寡核苷酸探针，这一技术能很灵活的响应并实现芯片探针设计方案，芯片密度可以是 244K, 2x105K, 4x44K, 8x15K 等，目前国内康成生物就又代理这些定制。

2.RNA 提取

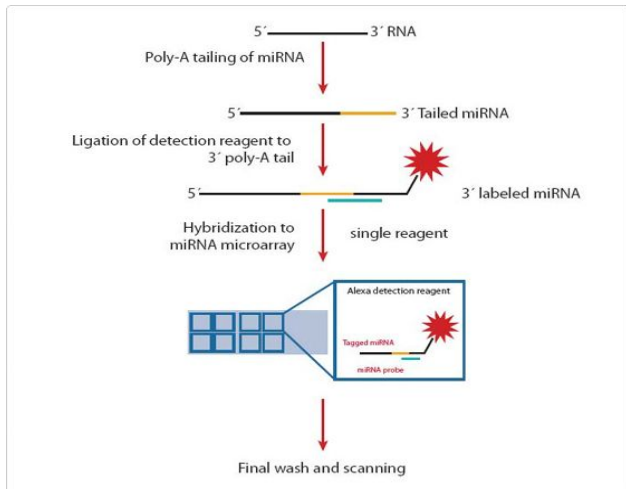
总 RNA 的提取方法有很多，比如可以利用 Trizol 进行 RNA 的分离，具体见生物通技术文章[如何提取小小的miRNA?](#)和[RNA纯化技术](#)，但无论用的是何种方法或何种试剂盒，需要注意的是要保护好小分子 RNA，避免用离心过柱式的 RNA 纯化试剂——因为常规的抽提试剂盒都是为了分离 mRNA 而设计的，往往会弃去较小的 RNA 分子以提高 mRNA 得率，这样正好获得了相反效果——也就是说，可以选择传统的方法：Trizol 抽提。由于小 RNA 沉淀慢，需要 -80 度过夜沉淀。如果实在讨厌胍和酚氯仿抽提的麻烦和漫长的沉淀离心过程，也可以选择专门提取小分子 RNA 的试剂盒，比如 Ambion 的 mirVANA，虽然也是方便的离心过柱式，不过纯化柱可是特别改良专门保留了小分子 RNA 的。

3.标记和清洗

miRNA 表达谱分析是一种对所有已知 miRNAs 的表达模式进行研究的强有力的方法，这种方法也许将来能在疾病诊断和治疗中大放异彩，但是进行这一实验的一个首要前提就是必须能可重复性的检测到所有的 miRNA，而不同的 microRNA 标记方法会直接到芯片表达谱这一精确性，因此要精心选择合适的 miRNA 标记系统。

由于 miRNAs 小分子的限制，其标记也就需要特殊的方法，较为常用的标记方法是酶法和化学法。前者主要基于 poly(A) 聚合酶 I，在纯化后的 miRNAs 的 3' 端上加上多个氨基染料修饰的核苷

酸，简单而灵敏，比如 Invitrogen 的 NCode™ miRNA Labeling System。



另外一种方法就是化学标记方法，比如 Label IT——将荧光标记直接通过共价作用加在 miRNA 分子上。PerkinElmer 的 MicroMAX ASAP miRNA 标记也属于这一方法，主要用于在 miRNA 上标记生物素和荧光素，步骤简单，仅需一个步骤，无酶的体外化学法标记。

两种方法的比较：化学标记方法简单，灵敏度比较高，而正因为灵敏度高可能造成标记不稳定，而酶标记方法比较麻烦，但结果比较稳定和可重复性好。

4. 杂交

幸好有多色荧光标记的存在，使得芯片杂交通常可以进行双重样品双色标记。要分析表达差异，

最好将 2 个样品分别用不同颜色的荧光标记，同时将 2 个样品杂交到同一张微阵列芯片上，不同的样品标记颜色不同，检测时会有不同的颜色，便于比较表达差异。由于在同一张片上，可避免芯片之间的差异对结果的干扰。不过，为减少两种荧光标记间的差异对结果造成干扰，通常还可以进行荧光标记互换，再共同杂交一次，从而提高结果可靠性。

杂交反应的过程与一般的分子杂交过程基本相同，杂交反应的条件要根据探针的长度、GC 碱基含量及芯片的类型来优化，如用于基因表达检测，杂交的严格性较低，而用于突变检测的芯片的杂交温度高，杂交时间短，条件相对严格。除了传统的杂交盒，这个过程还可以在 Bio-Rad 伯乐的 Frame-Seal Slide Chambers 上完成，这个 Chamber 背面具粘附性，能粘在玻片上样品区域，加入反应物后，用弹性的塑料膜密封。这种密封气密性，能经受住 97℃ 的高温，并且循环结束后，整个反应室很容易从玻片上拆卸下来。

这样就基本完成的 miRNA 芯片分析的实验部分，后续的数据分析可以根据选择的芯片所提供的数据库进行分析，所以开始选择芯片的一步尤为重要。总的说来还是那句话，适合的才是最好的，miRNA 芯片技术对于越来越多运用到的小分子 RNA 研究而言意义重大，希望着手进行这方面实验的实验人员能从上文中获得一些收益。

快速 PCR 之仪器篇

PCR 技术的发明已经有 20 余年，尽管基本的过程没有太大变化，但技术的进步是显著的：一方面是试剂组分的不断改良大大提高 PCR 反应的灵敏度、特异性、产物长度和应用范围；一方面仪器的改进使得反应体积减小、反应成本降低，反应通量大幅提高——从过去的 20ul 反应体积一下可降到 2-5ul（参考生物通技术文章：超微量 PCR 基因分型），成本压缩到原来的十分之一，顺应日益增长的高通量反应需求；近年来另一个重要的改进是加快 PCR 反应过程。因为传统的 PCR 仍然是一个相当耗时的过程。尤其是在实验室 PCR 仪有限的情况下，经常要提前登记，一天也才能轮上一回。这对那些赶着毕业或发文章的人来说，真是救火没水——干着急。

如果我现在告诉你，90 分钟的 PCR 反应 30 分钟就能完成，你相信吗？可能不少人还是觉得有些难以置信。毕竟大家已经习惯了漫长的等待过程。不过科学总在向前发展，快速 PCR 也必将成为 PCR 的发展趋势。大胆地试一下，说不定你就爱上了它。

想要 PCR 跑得更快，仪器和试剂必须双管齐下。我们就先来说说仪器吧。

PCR 反应总时间取决于每个循环所需的时间。每个循环中，变性-退火-延伸步骤的每次温度变化所需的时间是非常关键的影响因素。因此提高样品升降温的速率是实现快速 PCR 的关键。自然而然的，最大升降温速率成为选择 PCR 仪的一个重要考虑因素。但简单地看升降温速率还是不够的，最大升降温速率只能作为参考，因为在扩增过程中它会波动地很厉害，而反应时间关键是由样品达到目的温度所需要的时间来决定的，这与平均升降温速率和样品达到均一温度所需的时间有关。样品的升降温速率当然比模块要慢，这就好比炉子上的水壶，水壶很快就烧到 100℃，但水可能还是冷的呢。还要提一点，为数据好看，一些产品介绍“升降温速率”仅指模块最大升降温速率，闭口不提样

品升降温速率。而 PCR 仪王牌 ABI 这一点就很地道，会分别列出来。仔细比较你会发现同样的最大升降温速率，实际样品升降温速率很可能差别甚远，这就是技术差别。另外，精确控温对快速 PCR 仪来说尤其重要。因为温度升降得非常快，如果控制不精准，会带来非特异性扩增。

Bio-Rad 公司在收购 MJ 之后，四年磨一剑，在今年年初推出了 1000 系列 PCR 仪，包括 C1000 和 S1000。这可是真正的快速 PCR 仪，不光考虑了 PCR 本身的时间，还能帮你节省设定程序、优化步骤以及结果分析的时间。这两款 PCR 仪采用了专利的折合质量（reduced-mass）样品模块，比普通模块升降温更快，因此平均升降温速率提高了。96 孔模块的最大升降温速率达到每秒 5℃，平均升降温速率达 3.3℃/s。它们还包含 6 个独立控制的加热单元，能精确控制所有孔的温度，在快速升降温的同时实现温度均一。另外，它们还是市场上唯一一款带有全自动程序编写功能的仪器，用户只需要输入扩增产物的大小、使用的 DNA 聚合酶的类型、期望的反应速率（普通、快、超快），软件即可以给出建议的扩增程序，帮你缩短优化实验条件的时间。就一个 2 kb 的片段而言，使用 iProof 高保真 DNA 聚合酶扩增，快速模式需要 43

分钟，超快速模式需要 38 分钟，不过从电泳图可以看出，产物的量还是会受到速度的一些影响。

早在 2004 年，ABI 就推出了 9800 快速 PCR 仪，后来又陆续推出了多款快速定量 PCR 仪和 Veriti 系列 PCR 仪。先来说说 Veriti 96 孔 PCR 仪吧（下图）。它在去年上市，一改传统 PCR 仪笨重古板的外型，非常小巧可爱。引用一位国内用户的评价：“蓝白相间的颜色搭配，圆润流线的外观，大大的触摸屏，强大的功能，人性化的操作设计让我一下子喜欢上了她。”模块的最大升降温速率为 5°C/s，样品的最大升降温速率为 4.25°C/s。同时它也是传统和快速 PCR 仪的二合一。如果你现在一直做传统 PCR，而以后也许会尝试快速 PCR，那么这一款是最合适的。只需要几个简单的步骤，就能从传统 PCR 转化成快速 PCR。将 ABI 的 GeneAmp Fast PCR Master Mix 与 Veriti PCR 仪共同使用，扩增 500 bp 的片段只需 25 分钟；而 2 kb 的片段也只要 40-50 分钟就行了。



作为世界上第一家拥有梯度 PCR 技术专利的 Eppendorf 公司，也从最初的 Mastercycler 普通 PCR 仪发展到更快速度和更高特异性的 Mastercycler ep 系列。它们的广告语也让人印象深刻：速度快如微风，声音轻似耳语。与其他的合金模块不同，Mastercycler ep 梯度 PCR 仪采用的是银制模块，具有非常快速的升温和降温速率，升温可达 6 °C/秒，降温也达 4.5 °C/秒。想当年，ABI 还有升降温速率达 5 °C/秒的黄金模块，不过只是银质镀金而已，要是足金的现在可赚大了。扯的有点远，赶紧回来。Mastercycler ep 梯度 PCR 仪还有一种特殊的创新技术——Impulse PCR（脉冲 PCR）技术。第一步 PCR 反应时温度以极快的速率（8 °C/秒）上升，在聚合酶启动延伸反应前，引物和 DNA 之间的氢键已断裂。这样，既加快了反应，又增加了特异性，通过仪器本身实现 hot start 的效果。过去需要 1 小时才能完成的标准 PCR 程序应用 Mastercycler ep gradient S 只需不到 30 分钟就可以完成。

快速 PCR 依赖仪器和试剂的并驾齐驱。如果你使用快速 PCR 仪后，而用野生型的 DNA 聚合酶，则有可能导致反应失败或效果差。就好像老太太上跑步机，机器开得再快也没用，老太太的步子跟不上，一不留神还会摔下来。在快速 PCR 的过程中，所有的成分都应该齐心协力，才能共同进步。下一步我们来看看快速 PCR 中试剂的改进。（待续）

（生物通 余亮）

快速 PCR 之试剂篇

在 PCR 反应中，延伸阶段的持续时间主要取决于 DNA 聚合酶的延伸速率，提高聚合酶的活性，就可以缩短延伸步骤所需的时间，乃至整个 PCR 反应所需的时间。PCR 反应常用的 Taq、Pfu 等 DNA 聚合酶源自天然的生物体中用于 DNA 损伤的修复以及重组等，要想获得更高延伸活性的热稳定 DNA 聚合酶，如今已不必像以前那样在各类微生物中苦苦寻觅新欢了，研究者通过基因工程的手段将 DNA 聚合酶与某种蛋白融合，或直接利用突变的方法筛选出具有高延伸活性的 DNA 聚合酶。

Stratagene 鼎鼎大名的 PfuUltra II DNA 聚合酶就是将 PfuUltra DNA 聚合酶融合了专利的 ArchaeMaxx PCR 增强因子，再加上热启动的抗体。它不仅是市场上保真度最高的聚合酶，延伸速度也相当快，达到 15s/kb，相当于其他高保真酶的 4 倍，能节约 70% 以上的时间。就以一个 2.6 kb 的扩增片段为例，PfuUltra II 所需时间仅为 52 分钟，而其他酶约需两个半小时，这就是差距啊。本来高保真 Taq 酶的特点就是增加了 3'-5' 的校对功能，提高产物保真度同时要牺牲扩增效率的，作为公认保真度最高的 Pfu 能达到这样的高效，而一点不牺牲保真度，实在是做克隆的实验人员的“Dream”酶！扩增 40 次（50ul 体系）的价格是 1917 元，很贵吧，可以把反应体积缩小到 20ul 做 100 次。这只是酶的价格，没办法，一分钱一分货，Stratagen 从来都是这么高姿态。（生物通小提示：Stratagen 被 Agilent 收购后，现在国内代理已经是上海吉泰了）

国货当自强。北京的博大泰恒公司最近也推出了用于快速 PCR 的 DNA 聚合酶。BioDev Faster Taq 是由基因工程技术改造而成的新一代快速 Taq 酶。由于删除了非必需的蛋白序列，酶结构得到精简和优化，增强了与 DNA 模板的结合能力，酶分子在模板上的移动速度和聚合 dNTP 的速度都大幅提高。普通 Taq 酶的延伸速度一般为 1

kb/min，Faster Taq 的延伸速度为 1 kb/10-15 sec，最快可达 1 kb/5 sec，使延伸时间缩短为普通 Taq 的 1/4。Faster Taq 的比活性和扩增效率显著高于普通 Taq 酶，可以缩短变性和退火时间，进一步减少 PCR 时间。据介绍，Faster Taq 扩增 3 kb 片段仅需 38 分钟，扩增 8 kb 片段仅需 66 分钟。另外，价格也超便宜，100U 只需 40 元，真是抵到你不信。

除了对酶进行改造，PCR 反应液也是改造 PCR 反应效率的重要部分。不信？请看：

QIAGEN 的 Fast Cycling PCR Kit 中也添加了 Q-Bond 组分，能提高单链 Primer 和 Taq 酶之间的亲和性，形成 Taq 酶-Primer 复合物，同时结合到模板上，就这么简单。别小看这一点点进步，足以令引物模板之间的退火时间从常规 30 秒减少至短短 5 秒，以每次反应 35 个循环来计算就可以节省将近 15 分钟。对于高 GC 含量或者有复杂二级结构的模板，Fast Cycling PCR Kit 里也提供了 QIAGEN 独门秘器 Q-Solution，能非常有效的解开复杂模板的二级结构。这个 Q-Solution 是无毒的，固定工作浓度无需尝试优化的，这点区别于 DMSO。

除了这些添加剂，buffer 的配比也很有讲究。QIAGEN 的反应 Buffer 中特别均衡了铵离子和钾离

子的比例，一方面利用钾离子结合模板和引物上的磷酸基团以中和 DNA 过量的负电荷，提高模板引物结合力；另一方面利用铵根离子电离氢离子的可逆性竞争，提高特异性结合的引物和模板间的结合力（提供氢离子），削弱非特异结合力（竞争性夺取氢离子），令“强者恒强”，“弱者更弱”，提高退火条件的严谨性，进一步减少反应过程中的非特异扩增，显著提高 PCR 反应的专一性和灵敏度，同时也使得镁离子浓度变化对反应的影响减少到可以忽略不计。这些都再进一步提高 PCR 反应速度。价格也不算贵，报价人民币 2100 元/200 个反应，每个反应成本折扣前仅为 10 元，值得推荐。

此外，PCR 反应液中的一些小分子化合物如 DMSO、甲酰胺、甜菜碱等也能促进 PCR 的反应效率。DMSO 能改善 GC 含量高的 DNA 的变性情况，使聚合酶更容易在二级结构处延伸，但是当浓度高时（大于 10%）时会降低保真性。甲酰胺则促进某些“引物-模板”退火，降低带有二级结构的 DNA 的变性温度。硫酸铵能增加反应体系的离子强度，改变 DNA 的变性及退火温度，调节酶活。甜菜碱能减低解链温度，并改进长片段 PCR 的扩增效果。

Epicentre 公司的 TAQXpedite Fast PCR kit 中就含有一个神秘的 PCR 增强剂，其中含有甜菜碱。这个 PCR 增强剂能显著改善许多模板的产量和效率，尤其是那些高 GC 含量或二级结构的模板。有了这个护法，传统 PCR 也就变成了快速 PCR，扩增 500bp 的片段只需要 16 分钟。快速 PCR 在对付复杂模板或超长片段时可能不太灵光，所以这个试剂盒中配了两种 master mix，一种用于常规和快速 PCR，另一种 Difficult/Long Master Mix 则用来扩增困难模板或长片段，最长的片段可以达到 30 kb。一盒两用，所有 PCR 都可

一网打尽。唯一的缺点就是价格有点小贵，200 次（25ul 体系）需要 2893 元。

另外，市场上还有一些热销产品，虽然生物通暂时未能深入探究其原理，但市场反馈也证明了其有效性。比如 ABI 公司的 GeneAmp Fast PCR mastermix，能与 9800 快速 PCR 仪和 Veriti 96 孔 PCR 仪共同使用，25 分钟能完成 500bp 片段的扩增。它灵敏度颇高，能检测 10ng 人基因组 DNA 中的单个基因拷贝，或 10 个拷贝的 HIV 靶点。热启动型，且 90% 以上的产物都加了 A 尾巴，方便 TA 克隆。不过扩增片段只能达到 2 kb，短了点。250 次反应的价格是 5270 元，有意思的是，还有一个不带说明书的货号，不知能便宜多少。

Takara 公司的 Z-Taq DNA 聚合酶是上市较早的快速酶了，但不知为何现在已经停产，取而代之以新产品 SpeedSTAR HS DNA 聚合酶。SpeedSTAR 的扩增速度为 10 s/kb，还是热启动型的，特异性更好，关键是价格也超便宜，250U（50ul 体系 200 次）只需要 600 元。每次 3 块钱，不妨一试。

快速 PCR 固然是好，不过一定要在保证 PCR 的效果上求快。如果盲目求快，可能会损害了 PCR 的产量、特异性或保真度。就目前而言，快速 PCR 还是新生代，评价不够多，产品也不够丰富。随着时间的迁移，快速必将成为 PCR 的一种趋势。只是在当下，这个螃蟹就看你敢不敢吃了。

如果你既不能买 PCR 仪，又不愿买快速的酶，却希望 PCR 做得更快一些，那也不是异想天开。下一篇，就让我们听听专家的建议吧。

（生物通 余亮）



不再为膜蛋白样本制备而烦恼！

ProteoExtract® Transmembrane Protein

Extraction Kit (跨膜蛋白抽提试剂盒, 简称TM-PEK,

货号71772-3) 采用全新的化学方法, 不使用去污剂就能非

常温和而有效地从哺乳动物细胞和组织中抽提跨膜蛋白,

例如GPCRs等。试剂盒包含两种抽提试剂, 经过条件优化

可以获得特定跨膜蛋白的最佳抽提效果; 蛋白酶抑制剂、各种配套缓冲液也一并

提供。试剂盒足够用于20个样本的抽提操作 (每次 $2-5 \times 10^6$ 细胞或25-50mg组织)。



由TM-PEK试剂盒制备的膜蛋白可以方便地用于各种下游研究方法, 包括蛋白活性分析, 免疫检测, 天然或SDS-PAGE。胶内消化后富集的样本可以继续用于质谱数据分析。

咨询电话 400 820 8872

特点:

- 创新的无去污剂化学抽提法
- 用于抽提单次跨膜和多次跨膜蛋白
- 可以获得小蛋白和大蛋白复合物

产品页面: <http://www.merckbiosciences.com/product/d/71772>

另有天然膜蛋白抽提试剂盒 (货号 # 444810)

产品页面: <http://www.merckbiosciences.com/product/d/444810>

咨询电话 400-820-8872, [欢迎询价和索取产品说明书。](#)

技术热线: 400-820-8872, Email: bioteam@merck-china.com

Merck Biosciences

Calbiochem | Novabiochem | Novagen



先进科技 抢先体验

你还在为你的核酸提取发愁吗？
你还在为你的科研经费发愁吗？东西越贵就一定越好吗？
不！体验一下BioTeke给你带来的从核酸提取、PCR、RT-PCR到荧光定量的完美解决方案吧！

核酸提取到荧光定量

全攻略

- 你知道如何保护样品的RNA不降解吗？ [详情点击](#)
- 如何提取高质量的RNA，用于荧光定量的RNA如何提取更好呢？ [详情点击](#)
- 有些难以提取的样本有什么好的试剂盒吗？ [详情点击](#)
- 哪里有扩增效率又高，扩增长度又长，最好是Rnase H Minus，然后又很省钱的反转录试剂盒？ [详情点击](#)
- 荧光定量的实验好贵啊，好象没有便宜的试剂，哪里有达到ABI和TAKARA质量，价格又不高的试剂啊？ [详情点击](#)

临床样本核酸提取攻略：

- 临床检验样本RNA的提取 [详情点击](#)
- 临床检验样本基因组DNA的提取 [详情点击](#)
- 临床样本核酸提取技术资料 [详情点击](#)

荧光定量MIX、MMIv反转录酶、RNApure高纯总RNA提取试剂盒各有100个[free sample](#),发完即止

现在申请

本次体验活动时间从10月8日至11月30日，期间买就送彩色单道计时器

累计购买产品BioTeke产品

- 3000元以上送1G U盘
- 5000元以上送1G MP4
- 10000元以上送80G移动硬盘
- 30000元以上送700万相素数码相机

以上奖品可以换购等值物品，此次活动解释权归BioTeke所有。

北京市留学人员创业园 高新技术企业
北京百泰克生物技术有限公司 (BioTeke Corporation)
地址：北京市海淀区上地信息路15号金融科贸大厦(玉泉公寓)507室
电话：010-62951781 62983458 62979408 传真：010-62951781
网址：www.bioteke.com E-mail:info@bioteke.com



www.bioteke.com

快速 PCR 之空手套白狼

近年来涌现出不少仪器和试剂，让 PCR 的速度越来越快。尽管这些工具让我们省了不少心，但拥有快速 PCR 仪的实验室并不多，快速 PCR 酶也没有普及，我们只拥有普通的 PCR 仪和酶，但又想 PCR 做得更快一点，那也并非异想天开。在本文中，就让 Bio-Rad 的专家来告诉你如何空手套白狼，以最少的投入让 PCR 加快 3-4 倍。

最初的变性

PCR 反应的最初步骤是在 94-96°C 孵育 2-20 分钟。这个步骤将最初的模板变成单链，并激活热启动的聚合酶。但是即使是对全基因组 DNA 而言，只要 94-95°C 2-3 分钟也可以完全变性。有些热启动的聚合酶需要 15-20 分钟才能达到最大活性，但如果选择抗体修饰的热启动酶，比如 iTaq，只需 98°C 15-30 秒就能完全激活。

循环中的变性

PCR 循环中的变性时间就没有最初那么严格了，因为变性的模板只是 PCR 产物，它比初始模板短得多，也简单得多。Bio-Rad 的专家用 iQ supermix 试验过，只要在 92°C 变性 1 秒钟就足够了，对产物几乎没有影响，包括 GC 含量高达 83.5% 的产物。这与 Yap 和 McGee (1991) 的结论一致，他们认为 500bp 以下的 PCR 产物就根本无需 92°C 的变性。

退火和延伸

由于许多 DNA 聚合酶在很宽的温度范围内 (55-72°C) 都具有高活性，所以 PCR 的退火和延伸也可以压缩成一个步骤。少了一个步骤，时间自然也节省了不少。在大部分情况下，标准的退火时间 (15-60 秒) 和延伸时间 (1 min/kb) 其实是过长了。引物与模板是高度同源的，因此在适当的温度下只需要几秒钟就能完成退火。一些优化好的反应体系也能有效节省延伸时间。例如使用 iTaq，15 秒的退火/延伸对 500bp 的产物而言就足够了。

优化退火/延伸的温度对 PCR 反应来说还是十分重要的，因为它决定了反应的特异性。如果退火

温度太高，引物不能有效退火，会导致无产物或产量低；如果太低，引物错配，非特异扩增又会出现，质量大打折扣。为了最大化速度和特异性，应使用不牺牲产量的最高退火温度。这时就需要一台梯度 PCR 仪来帮忙了。

特别提示：如果你要为快速 PCR 反应重新设计引物，利用引物设计软件 (如 Primer3) 将会是一个很好的选择。你只需设定想要的引物 Tm 值就行了。利用现成的引物也可以，只要在 5' 端多加 2-4 个碱基。不过，你还要确认一下这样做是否产生了新的错配或自身配对。

最后的延伸

一般来说，PCR 最后的延伸步骤都是 70°C 5-10 分钟。尽管它被称之为延伸步骤，但是主要还是为了让 PCR 产物退火形成双链，以便用于克隆或电泳。Bio-Rad 的专家把时间缩短到 30-60 秒，发现它对 100-1000bp 的 PCR 产物几乎没什么影响。

循环数

起始模板浓度高的话，PCR 的循环数小于 20 都是 OK 的。但如果靶 DNA 的拷贝数低 (如 100 个拷贝)，那必须做 35 个循环才能产生足够的产物，在电泳中检测到。起始模板越少，模板就应该相应增加。实际上，很多时候我们不清楚模板的量有多少，那么为保险起见，最好还是做 35-40 个循环。

快速 PCR 专题到此结束。如果大家还有什么独家秘籍，欢迎与我们共享。

(生物通 余亮)

胰酶靠边站 温控的细胞培养表面问世

赛默飞世尔科技近日推出全新的 Nunc UpCell 表面用于温度诱导的细胞收集。只需要简单的温度变化，细胞就能迅速解离，再也不需要胰酶处理和细胞刮刀了，并能维持细胞活力和表面受体及抗原的完整性。即使是难解离的细胞或细胞片也可以用 Nunc UpCell 表面来收集。收集的细胞片可以堆叠，以便创建 3D 组织模型和共培养。Nunc UpCell 表面有无菌的 MicroWell 培养瓶和培养皿形式。

创新的 Nunc UpCell 表面包含了共价固定的聚 N-异丙基丙烯酰胺（PIPAA），它在培养瓶或培养皿的表面形成了薄且均匀的一层。该表面在 37°C 轻微疏水，能让细胞附着并生长，但是当温度降到 32°C，它就变得亲水，于是吸水并膨胀，使贴壁细胞与它们的细胞外基质（ECM）分离。细胞下 ECM 的存在使细胞片得以收集，并保留细胞极化，细胞间的连接，以及细胞片间的附着。于是不用脚手架和外源物质也能创建 3D 组织模型和共培养，大大简化了组织工程中的细胞培养过程。

有关更多 Nunc UpCell 表面的优势，以及它如何改变培养，请访问：www.thermo.com/UpCell

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）

Millipore 独家推出表皮角质形成细胞的 3D 培养基

2008 年 10 月 21 日，Millipore 公司宣布独家推出表皮角质形成细胞的 3D 细胞培养基。该培养基由 CELLnTEC 公司（CELLnTEC Advanced Cell Systems）研发。根据两家公司在 2006 年签订的合作协议，Millipore 共同拥有并出售。

过去，3D 表皮体外模型的制备主要是由商业化的公司提供，他们提供的 3D 皮肤模型一旦送达，必须立刻使用。有些实验室想自己制备模型，但苦于流程太复杂，且缺乏 3D 模型特定的培养基。

为了填补这个空白，CELLnTEC 开发了一种新的 3D 优化的培养基。有了它，再加上 CELLnTEC 原代人角质形成细胞和 Millipore 的 Millicell inserts，你就能在自己的实验室中建立 3D 表皮模型，成本也不高。这三种产品让研究人员能够按照自己的计划，在实验室中常规建立 3D 表皮模型。另外，该系统使用的是完全限定的培养基，让研究人员能完全掌控实验状况和时机，而价格也相当有吸引力。

近几年，大量研究显示新鲜制备的原代细胞比细胞系更能准确地模拟体内环境。而且 3D 细胞培养又比 2D 细胞培养更能体现体内的环境。因此，用原代细胞构建的 3D 培养是模拟体内复杂生物过程的最准确方法。

3D 体外模型的建立对细胞培养基提出了更严格的要求。首先，该培养基必须促进细胞终端分化，细胞分层并形成多层的结构。然而，它又必须能维持基底层的增殖细胞，这样才能持续供应模型所需的未分化细胞。这种矛盾的需求是传统的培养基无法满足的。新的 3D 培养基配方独特，能同时满足 3D 模型的增殖和分化。

CELLnTEC 新的 3D 表皮角质形成细胞培养基是根据 CELLnTEC 的原代角质形成细胞特别优

化的，与 Millipore 的 Millicell inserts 共同使用，能为 3D 体外皮肤模型创造出极佳的实验环境，代表了细胞培养性能的新水平，同时也非常便利和经济。

Millipore 从一个高品质过滤产品和服务的公司逐步发展成为工具和服务的领先供应商，并成为生命科学用户精选的重要合作伙伴。我们通过研发投入，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。我们的实验室过滤产品线包括了数千种实验室的膜过滤工具，用于在分析之前纯化和分离样品，让研究者们有效实现始终如一的高品质结果。

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 6100 名雇员。更多关于 Millipore 公司的信息请访问：www.millipore.com。

(生物通 余亮)

Promega 推出昆虫版的体外表达系统

Promega 公司近日扩展了 TNT 技术的产品线，推出了昆虫表达系统和大肠杆菌表达系统的改进版。这些新产品让研究人员有了最全面的无细胞表达工具，使 DNA 到蛋白的表达一步即可完成。

最新版本的昆虫提取物系统有着独特的优势，最重要的是表达温度比其他系统低。在低温下表达能增强蛋白的折叠以及稳定性，是进行突变研究的科学家的首选方法。

TNT 系统只需一个步骤，比市场上其他系统要省时不少。Promega 专有的 TNT 技术利用 DNA 作为模板，将转录和翻译偶联，使研究人员节省了纯化和定量用于体外表达的 mRNA 的时间，大大加快了整个流程。

TNT T7 昆虫细胞提取物蛋白表达系统是方便、快速、单管的无细胞蛋白表达系统。细胞提取物来自广泛应用的 Sf21 细胞系。转录和翻译反应所需的所有组分都被添加到 TNT T7 ICE Master Mix 中。只需要加入 DNA 模板，即可启动蛋白合成。这种形式大大节省了准备时间。反应在 28-30°C 进行，4 小时即可完成。

无细胞蛋白表达与传统的细胞蛋白表达相比，有着独特的优势，包括节省时间，可以得到更多具有功能的、可溶的全长蛋白。普通的反应能产生足够量的蛋白，用于一系列应用中，包括蛋白与蛋白、蛋白与核酸的相互作用。

如果想了解 Promega 无细胞表达系统的更多信息，请访问：

http://www.promega.com/applications/prtn_exp/

关于 Promega 公司

Promega 公司一直致力于向生命科学界提供创新的解决方案和技术支持。公司的 2000 种产品使全世界的科学家能够在人类鉴定、基因组学、蛋白质组学、细胞分析和分子诊断等方面提升他们的学识。请访问 www.promega.com 来获取更多信息。

(生物通 余亮)

奥林巴斯推出新款全智能型光学显微镜

2008年10月16日，奥林巴斯公布了一款智能生物图像导航仪 FSX100，它应用了数字时代的先进技术，将软硬件整合在一起，将光学显微镜的系统化、智能化水平推向了新的高度。

该款产品打破了人们对显微镜的传统印象，采用箱式设计，目镜和物镜均隐藏在箱体结构内部。

据介绍，该新款显微镜完全由奥林巴斯自主研发，可自动聚焦、自动曝光，整个操作被简化到只有选择、构图、调整、采集四个步骤。购买后不需专业安装，使用不需专业培训，标本只需放入主机，就可快速获得显微图像。可自动保存多种调试的记录，可随时存取调用，方便多人研究小组的使用和协调。

这款产品物镜放大倍数最大可达100倍，可满足在体、组织、细胞等多种一般性质的用户需求，特别适合经费充足且成员较多、长时间需要使用荧光显微镜的研究单位。

据奥林巴斯北京销售服务有限公司生命科学事业部本部长广桥章生先生介绍，FSX100的软件是完全内置设定的，如果用户为满足特殊需求，需要修改软件功能，需选择奥林巴斯其他系列的产品。

该款新产品将于11月4日在全球同步上市，定价将在奥林巴斯显微镜系列产品中中等偏上。

奥林巴斯创立于1919年，翌年在日本第一次成功地将显微镜商品化，1950年在世界上首次开发成功内窥镜。迄今为止，奥林巴斯株式会社已成为日本乃至世界精密、光学技术的代表企业之一，事业领域包括医疗、生命科学、影像和产业机械等。

智能生物图像导航仪 FSX100



Waters 发布快速检测三聚氰胺的方法

Waters 公司响应中国科技部的号召，近日发布了快速检测婴儿奶粉和液体奶中三聚氰胺的方法。该新方法使用了液相色谱串联四级质谱仪器 Waters ACQUITY TQD，以及应用了 IntelliStart 技术的 Waters MassLynx 4.1 软件用于数据收集和质谱参数优化。

在“结石宝宝”事件之后，科技部征集快速检测三聚氰胺的方法，以便全国推广。科技部的具体要求是能快速检测三聚氰胺，检测极限小于或等于 2 mg/kg (ppm)，重现性好。此外，美国官方申明在婴儿配方奶粉中不允许有任何三聚氰胺残留。这意味着急需一种分析方法，能准确定量多种浓度的三聚氰胺。

Waters 发布的方法满足甚至超越了科技部的这些要求。UPLC/MS/MS 方法能检测低至 1 ug/kg (ppb) 的三聚氰胺，而且每个样品只需 15 分钟就可以完成。

Waters 化学分析部的高级主管 James Willis 表示：“Waters 与中国科技部的合作由来已久，我们聆听他们的需求，并提供解决方案。中国的分析仪器公司正在提供培训，以此来协助食品安全的科学家。最重要的是培训内容应该是满足科技部要求的，能快速检测牛奶和婴儿配方奶粉中的三聚氰胺，重现性好——这些正是 Waters 今天发布的。”

利用 UPLC/MS/MS 方法快速检测奶制品中三聚氰胺污染的具体步骤，可在 Waters 网站下载：
www.waters.com/waters/library.htm?locale=en_US&cid=514887&lid=10087429&xcid=91。

关于 Waters (www.waters.com)

Waters 为全球各地的实验室和检测机构创造经营优势已有 50 年的历史，坚持不懈的创新使 Waters 在医疗卫生服务、环境管理、食品安全和水质检测等领域取得显著的研究成果。

结合了在分离科学、实验室信息管理、质谱分析和热分析等领域的领先成绩，Waters 的技术突破和解决方案，为客户的成功提供了持久有效的发展平台。

Waters 公司 2007 年年收入为 14.7 亿美元，拥有 5000 名员工，以不间断地科学探索，为全球客户提供卓越的解决方案与服务。

(生物通 余亮)

美国 FDA 发布婴儿配方乳制品中三聚氰胺的检测方法

美国FDA于日前在 *Laboratory Information Bulletin* No.4421 上发布婴儿配方乳制品中三聚氰胺的检测方法 (*Determination of Melamine and Cyanuric Acid Residues in Infant Formula using LC-MS/MS*)，该方法使用了 [Thermo Scientific TSQ Quantum](#) 与 [Surveyor HPLC](#) 液质联用系统，婴儿配方奶粉中三聚氰胺和三聚氰酸的定量限 (LOQ) 是 0.25 µg/g。

具体文献请登陆：

<http://www.cfsan.fda.gov/~frf/lib4421.html>

[TSQ Quantum LC-MS/MS](#) 以其开创性的专利技术将三重四极杆液质联用系统推向一个新纪元。该系统最具革命型的特点是其优于 0.1DaFWHM 出色的分辨能力。最为目前世界上唯一可以进行高选择性反应监测能力 (H-SRM——分析的三重四极杆质谱仪。它能够显著提高测试实际样品时定量及定性的灵敏度及准确性，并且能够极大地减轻客户再样品前处理工作中地压力。

关于 Thermo Fisher Scientific (赛默飞世尔科技，原热电公司)

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 30000 人，在全球范围内服务超过 350000 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。欲了解更多信息，请登陆：www.thermofisher.com。

先下手为强 近期免费试用装汇总

都说天下没有免费的午餐，不过偶尔会有免费的试用装。在花大笔金额购买试剂之前，用试用装来试一下，只有好处，没有坏处。不过试用装的数量大多是有限的，先到先得，所以要赶快下手哦。

PureYield™ 质粒小提试剂盒 (Promega)

10 分钟即可纯化出转染级的质粒DNA

<http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/080927/index.htm>

RNApure 高纯总 RNA 提取试剂盒 (百泰克)

RNApure的裂解液通过氯仿分层后去除绝大部分的DNA，过柱几次漂洗去蛋白质和杂质，然后用漂洗液RD特异性地洗去残留的DNA，最后洗脱的RNA纯度极其高。

<http://www.ebiotrade.com/custom/bioteke/081013/index.htm>

LongAmp™ DNA 聚合酶 & Crimson™ DNA 聚合酶 (NEB)

前者保真度高，是扩增长片段DNA的首选酶；后者Buffer含红色染料，可直接上样电泳，适用于高通量反应。

<http://www.ebiotrade.com/custom/NEB/081017/index.htm>

MMLV 反转录酶 (百泰克)

点突变使RNase H活性缺失，而保持完全的DNA聚合酶活性，有效增强了cDNA的合成效率，增加了酶与引物/模板的亲合力。

<http://www.ebiotrade.com/custom/bioteke/081013/index.htm>

荧光定量 PCR 反应液 (百泰克)

含有SYBR Green I的 2×荧光定量PCR反应液，具有快速、灵敏度高、特异性强、稳定性好的特点。

<http://www.ebiotrade.com/custom/bioteke/081013/index.htm>

Attractene 转染试剂 (QIAGEN)

新一代的转染试剂，能对所有贴壁细胞，包括难转染的细胞如HaCaT、MonoMac6、HCT116等，以及多种悬浮细胞进行高效DNA转染。毒性极低。

<http://www.ebiotrade.com/custom/Qiagen/080925/index.htm>

xCELLigence 实时细胞分析系统 (Roche)

xCELLigence系统利用检测电子传感器阻抗变化以反映细胞生理状态，从而对细胞进行无损伤地实时定量检测。应用范围包括：细胞存活和增殖、诱导的细胞毒性、受体功能分析、细胞质量控制、细胞黏附和细胞伸展、细胞浸润和细胞迁移。

<http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/080730/index.htm>

更多的特价信息请看生物通的特价专栏。

哈佛干细胞研究所推出开放的干细胞网站

哈佛医学院干细胞研究所最近创建了一个新网站StemBook (www.stembook.org)，为干细胞科学家和学生提供了最新的研究动态。StemBook提供了原创并由同行评审的文章，覆盖干细胞生物学的方方面面。

尽管是由干细胞研究所创建的，但 StemBook 是哈佛和全世界干细胞研究者的共同结晶。StemBook 于 2008 年 9 月份推出，内容有 16 章，并已委托世界各地的干细胞科学家编写更多的章节，还会陆续推出 80 多章。

Lisa Girard 是干细胞研究所的科学编辑，她说：“我们本来可以放上 800 多章的。我们的局限在于自身控制质量的能力。”

每两年，作者都会更新文章的内容，并由同行评审，以确保网站的内容是新颖的。每一章包括摘要、文章、图片、资源链接以及相关杂志文章的网络数据库。

Girard 还在为另一个类似的网站 WormBook (www.wormbook.org) 服务，它包含了线虫 (*C. elegans*) 的研究进展。WormBook 在线虫研究群体中很受欢迎，每月的点击量达 10 万。她希望 StemBook 也同样受欢迎。

StemBook 目前已有的章节如下：

* Cellular and nuclear reprogramming

- * Ectoderm specification and differentiation
- * Endoderm specification and differentiation
- * Mesoderm specification and differentiation

- * Epigenetics

- * Genomics and proteomics

- * Germ cell and somatic stem cell biology in reproduction

- * Niche biology, homing, and migration

- * Renewal

- * Stem cell immunology

- * Therapeutic prospects

- * Tissue engineering

(生物通 余亮)

Invitrogen 低调收购测序公司 VisiGen

生物通报道，Invitrogen 在 10 月 21 日公布其第三季度财务报告时，低调宣布以 2000 万美元收购了一家开发单分子实时测序技术的公司——VisiGen Biotechnologies。

Invitrogen 表示对 VisiGen 的收购进一步增强了其在单分子 DNA 测序上的知识产权财富，但是没有对收购细节作任何详细的说明。

VisiGen 总部设在美国得克萨斯州的休斯顿，成立于 2000 年。该公司曾收到 ABI 和 SegWright 公司的投资，并由美国国防高级研究计划署、人类基因组研究院和国立综合医学研究院提供资助。

VisiGen 正在开发一种技术平台，利用改造过的 DNA 聚合酶来检测修饰的核苷酸，最终将让研究人员能在一天之内完成人类基因组的测序，费用低于 1000 美元。

VisiGen 的官员曾表示公司计划在明年底推出测序技术的服务，并在 18 个月-两年之后推出仪器和试剂。

Invitrogen 在第三季度的财务报告中，公布了这一收购。与 2007 年第三季度相比，Invitrogen 的收入增长 15%，达 3.62 亿美元。有机增长为 10%。排除汇率的影响，区域收入增长分别为：美洲 11%、欧洲 8%、亚洲太平洋地区 11%。Invitrogen 预计第四季度的有机增长将会是个位数。

另外，ABI 公司在 2009 财年第一季度的收入也增长了 6%。这主要归功于实时定量 PCR/应用基因组学业务的 13%、核心 PCR/DNA 合成业务的 17%，而质谱业务则下滑了 10%。ABI 总裁 Mark Stevenson 表示 SOLiD 系统推动了 DNA 测序业务的良好增长。

(生物通 余亮)

拜耳制药饮 xCELLigence 头啖汤



据 Roche 应用科学部称，德国柏林的拜耳先灵制药已经购买了 Roche 非标记实时分析系统 xCELLigence，成为该系统的首批使用者。xCELLigence 系统适用于众多应用，从短期的动力学分析如测量 G 蛋白偶联受体（GPCRs）的作用，到细胞增殖和毒性分析，xCELLigence 都能胜任。

Roche 应用科学部的主管 Manfred Baier 评论说：“我们预计药物研究将成为 xCELLigence 系统的主要应用领域之一。电子传感器的设计、收集和获取数据的创新技术，加上优化的仪器，使该系统成为细胞分析的独特平台。”

xCELLigence 系统只需 15 秒分析 96 孔 E-Plate，就能对结果及动力学进行连续的分析。这项技术的核心是嵌在标准 16 或 96 孔 E-Plate 微孔板底部的微电子生物传感器。与传感器接触的细胞改变了微电极之间的电阻。细胞状态的每次改变，如细胞粘附、细胞毒性、细胞增殖、细胞间的相互作用和形态改变，都会导致电阻的改变，从而被系统实时快速地检测到。分析过程无需对细胞进行标记，而标记有可能诱导细胞发生非生理性的变化。更多关于 xCELLigence 系统的信息，请访问 www.xCELLigence.roche.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）