

EBIOTECH

生物通技术周刊

第48期

2008年10月18日

[技术前沿]

TA克隆的策略

自动化的快速核酸抽提系统

[新品速递]

全面保护组织中的DNA、RNA和蛋白质

贝克曼推出自动化的核酸提取系统

想不红都不行 最时尚的凝胶成像系统

你了解琼脂糖吗？

[应用指南]

病毒感染病毒 罗氏测序仪助力首个噬病毒体的发现

近红外(NIR)光谱：现代科技在传统中药中的应用

[行业动态]

ABI加盟药物毒性筛选

Sanger研究院再购11台Illumina测序仪

Sigma-Aldrich公司和ECACC达成战略合作协议

赛默飞世尔科技与Genentech合作开发创新的siRNA治疗技术

TA 克隆的策略

对于亚克隆来说，酶切-连接可谓是最经典的方式。虽说效果不错，可着实有些麻烦。载体和片段分别酶切、跑胶、回收，再加上连接和转化，一星期转眼就过去了。做表达的那是没办法，载体上只有多克隆位点，那我们只能配合。对于只是想克隆保存或测序的同学来说，快速简便的 TA 克隆则不失为一个好选择。

TA 克隆的 idea 最初来自 1994 年。几位学者发现 Taq DNA 聚合酶会在 PCR 产物的 3'末端加上一个脱氧腺苷（A），而且这种特性与模板无关。之后，Invitrogen 公司发明了 TA 克隆技术，并拥有全球 TA cloning 商标的专利权，直至 2013 年。（这个就够他们赚得盆满钵满了。）线性化的 T 载体在 3'末端拥有一个脱氧胸苷（T），与 PCR 产物的 A 尾巴互补。原理就是这么简单。不过由于价格的原因，Invitrogen 的 T 载体在国内却不是销量最好的。Promega 的 pGEM-T (easy) 和 Takara 的 pMD18-T 因性价比高，更加深入人心。

TA 克隆的步骤无需赘述，相信大家都很清楚。无非就是 PCR、连接、转化、鉴定这几个步骤，不过还有一些不得不说的问题，值得大家注意。

用什么样的聚合酶？

不是所有的聚合酶都会在 PCR 产物末端加 A。具有 3'到 5'外切酶活性的高保真酶就不会产生 A 尾巴。如果你下一步想要做基因表达，一定要用高保真酶，那也没问题。只要用 Taq 酶在产物末端加个 A 就 OK。步骤也很简单，根本无需买个什么加 A 试剂盒，几步就搞定了。

1. 用高保真酶扩增完之后，在反应管中加入 0.7-1 unit 的 Taq 聚合酶。无需更换 buffer，其中的 dATP 已经够用。

2. 在 72°C 孵育 8-10 分钟。

3. 立即进行纯化，沉淀、跑胶、或用纯化试剂盒。这一点相当重要，否则高保真聚合酶会将 A 尾巴或 T 载体上的 T 尾巴切掉。

有些高效率的聚合酶其实是 Taq 酶和高保真酶的混合物，大约有一半的产物加了 A 尾巴。所以你在克隆之前最好搞清楚你用的酶到底是否加 A，否则克隆出来白斑太少，又要讨论好久。

PCR 产物的纯度

如果你的 PCR 产物只有唯一一条带，恭喜你。不过为保险起见，最好还是用 PCR 产物纯化试剂盒来纯化一次。否则白色菌落中的插入片段可能是引物二聚体哦。如果你发现有非特异条带，那最好优化一下 PCR 反应，让非特异条带消失。跑胶纯化是下策，因为胶纯化可能会带走 3'的 A 尾巴。而且注意不要在紫外灯下暴露太久。只需 5 秒，紫外对 DNA 的伤害就足以检测；而长达 60 秒的照射会让某段序列在测序时无法读取。问题远比你想象中严重。

生物通提示：PCR 产物其实也有保质期。为了保证连接效率，PCR 产物最好不要超过一天。因为上面的 A 尾巴会随着时间逐渐降解，导致连接效率下降。千万不要为了省事，就整个一大管 PCR 产物，每次用一点。最终反而更浪费时间。

载体和片段的比例

这往往是影响克隆效果的最大因素。通常来

说，载体与片段的起始摩尔比为 1: 1。计算方法如下：

$$\frac{X \text{ ng PCR 产物}}{\text{kb 载体大小}} = (\text{ng 载体} \times \text{kb 片段大小})$$

如果这样的比例不能令你满意，你可以在 3:1 到 1: 3 的范围内进行优化，选择最佳的比例。PCR 产物的浓度可以通过与 Marker 比对估算出来。还有一种更准确的方法，用 GE 的 NanoVue 超微量分光光度计。只需要 0.5 ul，就能测量出样品浓度，你再也不用舍不得珍贵的样品了。0.5 ul 而已，小意思。

对照

托尔斯泰曾说过：“幸福的家庭总是相似的，不幸的家庭各有各的不幸。”实验也是如此。失败的实验总有各种各样的缘由。对照在实验失败时就凸显其重要性了。

阳性对照

一般在购买 TA 克隆的 kit 时，都会附带阳性对照。你应该在第一次实验的时候，就按照说明书上对照反应的步骤，同时进行阳性对照，以检验 PCR 和连接反应是否有问题。而不是在失败了七

八次之后，才想起阳性对照。浪费了时间不说，如果你的样品很珍贵，那谁也无力回天。一般说来，起码有 60%以上的菌落应该是白色的。

自连对照

这个对照是检验 T 载体的 T 尾巴是否还在。如果转化后出现大量菌落，这个 T 载体一定有问题。

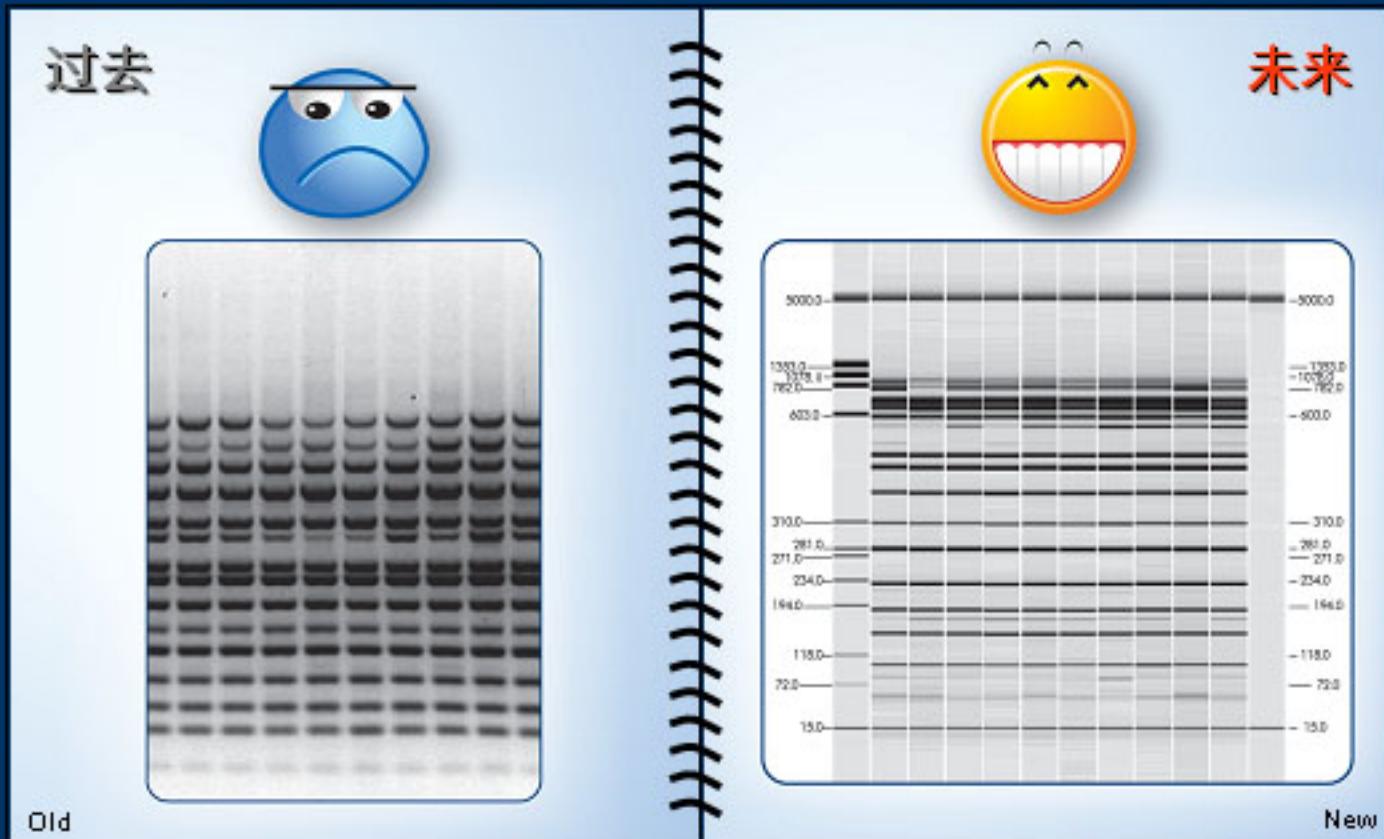
转化对照

每一次转化实验都应该设立对照。自家制备感受态细胞是这样，购买现成的感受态更是这样。因为感受态细胞非常敏感，绝对不能冻融。从外地长途运输过来，谁知道中途发生过什么事。为保险起见，一定要转化一个环状的质粒（非 T 载体，因为它们已经线性化了）作为对照。如果没有看到密密麻麻的菌落，这个感受态基本就是不合格的。

TA 克隆的效率主要与片段长短有关，片段越长，效率越低。一般的 TA 克隆试剂盒适用于 3kb 以下的片段。如果你的片段很长，最好选择一些特别的长片段克隆试剂盒，详见后文。

(生物通 余亮)

Bye-bye了，传统凝胶电泳！



3-5分钟常规片段分离；10分钟高分辨率片段分离……

不用制胶、上样、拍照……

一切尽在鼠标轻点之间……

QIAxcel新一代的核酸片段分析系统，开启凝胶电泳的新篇章！

更多QIAxcel信息请点击进入>>

自动化的快速核酸抽提系统

MagMAX™核酸抽提系统充分考虑待检样品的复杂性，采用适当的前处理，使得从各种样品中抽提核酸的过程能基本统一化，从而实现实验室核酸抽提操作程序的归一化和标准化，大大加速样品制备过程，提高检测结果的可靠性。此系统包括 **MagMAX™**核酸抽提试剂盒和 **MagMAX™ Express** 磁珠处理器，使用非常方便，可在更短的时间内得到高质量的结果。

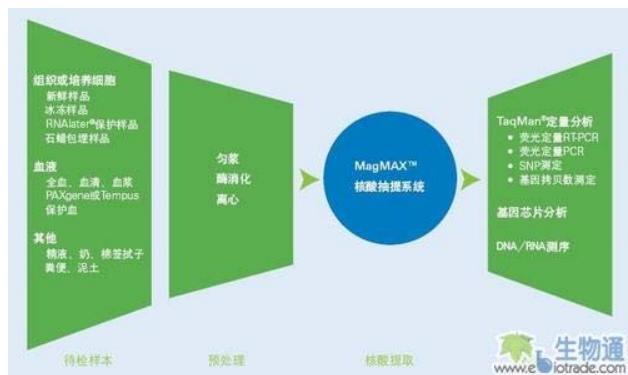


图 1. **MagMAX™** 抽提系统分离纯化核酸的基本流程

久经考验，性能卓越

从生物体液和不含寄主细胞的样本（如血清，血浆，化验标本，细胞培养基，血液，精液和奶）中提取核酸面临许多挑战，例如核酸的浓度非常低，大量的标本需要处理，以及标本的复杂性。抽提得到的核酸也必须可以用于荧光定量 PCR。

MagMAX™核酸抽提系统致力于解决所有这些问题，同时为了便于自动化，不使用有机溶剂或者核酸沉淀试剂。采用微磁珠代替滤膜，可以消除滤膜核酸分离方法的常见问题，如滤膜堵塞，洗脱体积过大，抑制剂清除不彻底，以及回收率不一致等。

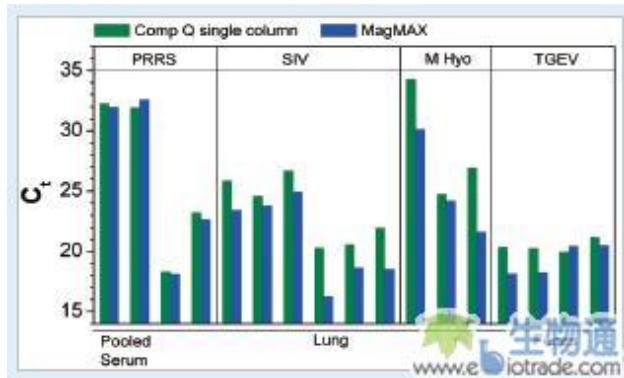


图 2. **MagMAX™** 试剂可以从各种各样的样本中非常有效的提取病原体中的核酸。在本例实验中，通过对猪蓝耳病病毒 (PRRSV)，流感 (SIV)，肺炎支原体 (M Hyo) 和传染性胃肠炎病毒 (TGEV) 的核酸的分离来比较 **MagMAX™-96** 病毒 RNA 分离试剂盒和 Q 公司的过滤方法。在所有的实验中，Q 公司的过滤方法使用 140 微升样品，而 **MagMAX™** 分离方法只用 50 微升样品。尽管 **MagMAX™** 分离方法使用样品更少，对病原体核酸检测却具有同等（相同的 Ct 值）或更高的灵敏度（更低的 Ct 值）。

MagMAX™核酸抽提系统

MagMAX™核酸提取试剂盒

由于采用具有超高核酸结合表面的顺磁性微珠，**MagMAX™**核酸分离试剂盒可以从各种各样的生物样本中抽提核酸，回收率高，纯度好，实现高

灵敏、高特异性的分子检测。

MagMAX™禽流感/新城疫（AI/ND）病毒核酸试剂盒

通过美国农业部国家兽医服务实验室（USDA/NVSL）评估并纳入美国农业部禽流感/新城疫病毒定量 PCR 诊断标准

MagMAX™总核酸抽提试剂盒

利用微小锆珠机械破壁结合化学裂解，保障核酸有效释放，然后用 MagMAX™技术纯化核酸。适用于具有坚硬细胞壁的革兰氏阳性细菌、芽孢等。

MagMAX™血总 RNA 抽提试剂盒

从人、牛、猪或羊的全血中抽提总 RNA。

MagMAX™病毒核酸抽提试剂盒

从各种各样的样本中同时抽提病毒 RNA 和 DNA

能从 0 到 400 微升的样本中有效回收低至 10 个病毒核酸分子

MagMAX™总 RNA 抽提试剂盒

更有效的 DNA 降解酶和降解液，减少 DNA

的污染、保持 RNA 的完整性；并增加了更完善的方法从植物组织中抽提 RNA 的方法。

MagMAX™芯片纯总 RNA 抽提试剂盒

Tri Reagents 和 MagMAX™技术的完美结合，RNA 抽提效果更好、更稳定。

MagMAX™ Express 磁珠处理仪

MagMAX™ Express 磁珠处理仪是 MagMAX™核酸抽提试剂盒的理想伴侣，能自动、快速完成核酸抽提。拥有两套配置可供选择：针对低通量的 MagMAX™ Express（一次可处理 1-24 个样品）和针对高通量的 MagMAX™ Express-96（一次可处理 1-96 个样品）。

MagMAX™ Express 磁珠处理仪

工作体积为：20 到 200 微升

处理样品量：每次可处理 1-24 个样品

MagMAX™ Express-96 磁珠处理仪

工作体积为：50 到 1000 微升

处理样品量：每次可处理 1-96 个样品，有标准磁头和深孔磁头可以选择

ABI 供稿，生物通翻译

全面保护组织中的 DNA、RNA 和蛋白质

越来越多的学者开始利用系统生物学 (systems biology) 的方法来研究细胞功能，全面覆盖基因组学、转录组学、蛋白质组学及其他。人和动物的组织正日益成为这项研究中理想的生物样品，因为它们与培养的细胞相比，能更好地代表真实的细胞功能。为了确保在系统生物学中获得具有可比性的结果，在收集组织时组织样品中的 DNA、RNA、蛋白应立即稳定。这一点很重要。如果不立即稳定，DNA、RNA 和蛋白图谱就会因特异和非特异的降解、诱导和共价修饰而迅速改变。RNA 格外敏感，因为 RNase 无处不在，而样品处理也会导致 mRNA 转录本的下调。蛋白质也会因蛋白酶的作用而降解，同时基因诱导下新蛋白不断合成。另外，快速、频繁的蛋白修饰也在发生，因为细胞会对样品处理作出应激反应。DNA、RNA 和蛋白图谱的变化不仅导致基因组、转录组和蛋白质组的结果不可靠，还会影晌数据相关性的研究（例如在 mRNA 和蛋白水平比较基因表达）。

除了 DNA、RNA 和蛋白质，我们感兴趣的小分子还包括 microRNA、甲基化的基因组 DNA 和磷酸化蛋白。细胞中这些分子的稳定能确保下游分析取得有意义的结果，并实现不同分析结果的比较（例如 microRNA 表达与蛋白表达的相关性）。

DNA、RNA 和蛋白的同时稳定通常是将组织样品迅速放入液氮中。冰冻的样品随后放在-80°C 或用干冰运输，直到开始纯化和分析。然而，液氮和干冰都是危险品，处理多个样品还是不方便。在某些工作环境，液氮缺乏，或不允许使用。这时，我们需要一种室温的稳定方法，来简化收集、稳定、运输和保存组织样品的过程。

QIAGEN 公司的 Allprotect Tissue Reagent（全面保护组织试剂）是第一个无需冰冻就能稳定组织中 DNA、RNA 和蛋白的解决方案。室温下，新鲜收获的组织浸没在试剂中。试剂会立刻渗透组织，使 DNA、RNA 和蛋白稳定。这些分子受到保护，不会被 DNase、RNase 和蛋白酶降解。另外，还可以避免 mRNA 转录本和蛋白的上调或下调，

蛋白在纯化后还具有酶活性。细胞内的 DNA、RNA 和蛋白图谱被完整保留，确保下游分析的可靠结果。QIAGEN 研发部门还证明 Allprotect 还能稳定 microRNA、甲基化的 DNA 和磷酸化蛋白。

Allprotect 试剂像洗手液一样，是泵装的。只需轻轻一按，试剂就能进入样品管中。Allprotect 保护的组织能在室温（15-25°C）保存多达 7 天，运输时也无需干冰。你也可以将这些组织保存在 -80°C。根据 QIAGEN 研发部门的数据，Allprotect 试剂中的组织可以在 2-8°C 安全保存长达一年。因此，Allprotect 提供了冰箱长期保存样品的可能。

Allprotect Tissue Reagent 是 QIAGEN 的生物医学组织管理系统的组成部分。该系统整合并标准化了所有样品制备步骤的流程，从样品收集和稳定到样品裂解和 DNA、RNA 及蛋白的纯化。这个系统包含了一系列 AllPrep 试剂盒，能同时纯化 DNA、RNA 和蛋白；DNA 和 RNA；以及 RNA 和蛋白。

（生物通 余亮）

贝克曼推出自动化的核酸提取系统

贝克曼库尔特公司 (Beckman Coulter, Inc.) 最近推出全新的 SPRI-TE 核酸提取器，能自动纯化 DNA 和 RNA。这种使用方便的新系统能在 30 分钟内纯化 1 至 10 个样品，而用户只需简单的培训即可。配合这台新仪器，目前已有多款即用型的提取试剂盒，还能从 FFPE 核酸样品中提取基因组 DNA 和病毒。

SPRI-TE 融合了贝克曼库尔特专利的 SPRI (固相可逆固定) 技术。其原理是在一定盐 (如 NaCl、MgCl₂、CaCl₂、KCl、LiCl 等) 和聚乙二醇 (PEG-8000) 的浓度条件下，DNA 可非特异性地结合于表面有 COOH 末端的磁珠上。一旦结合，可用 70% 的乙醇对 DNA-磁珠复合物进行彻底清洗，最后用 Tris 缓冲液将 DNA 洗脱下来。以 PEG 作为杂交液的原因是 PEG 与蛋白有极好的相容性，并能通过空间位置排斥效应将 DNA 聚集于包覆有高分子的磁珠上，这样便可除去样品裂解液中的大量蛋白质。另外，PEG 还能增加反应混合物的粘度，使磁珠保持悬浮状态而不沉降。SPRI 技术与硅胶包被的磁珠相比具有更强的结合力，且纯化质量更高。无需离心，也不用酚、氯仿等有机萃取剂，30 分钟内即可完成。纯化片段范围广，小到 PCR 产物，大到 200 Kb 的 BAC，都可一网打尽。产生的 DNA 可用于测序、酶切及体外转录等。

“越来越多的临床实验室开展分子诊断业务，他们急需小型又易用的核酸提取器。”贝克曼库尔特分子诊断业务的市场部副总裁 Bernhard Spiess 评论道。“我们尖端的磁珠技术早已经应用于多个诊断领域中，包括肿瘤、传染病和遗传性失调的诊断。”SPRI-TE 的客户可以获得由贝克曼库尔特的服务网络提供的每天 24 小时，每周 7 天的售后服务。这个经验老道的服务网络已经具有 70 年的悠久历史。

总部位于美国加州橘子郡的贝克曼库尔特开发、制造和销售一系列产品，能简化和革新复杂的生物医学检测，并使其自动化。现在已有超过 2000 台贝克曼库尔特的仪器在全世界的实验室中运转，提供关键的信息，来改善患者的健康并降低医疗费用。该公司 2007 年度总收入为 27.6 亿美元。更多信息，请访问<http://www.beckmancoulter.com>。

(生物通 余亮)

想不红都不行 最时尚的凝胶成像系统



乍一看怎么像个 ATM 取款机？No，这可是台凝胶成像仪。一改以往成像仪笨重、沉闷的造型，美国 Alpha Inotech 公司推出一款时尚的个人化凝胶成像系统，命名为“RED”。

这台成像仪最独特的地方就是不需要配置电脑，它将电脑整合在内部。成像仪的上方是 8 英寸的触摸式显示屏，所有操作尽在指尖。成像仪的下方是放置样品的空间。RED 非常小巧，尺寸为 27×55×55 cm（宽×长×高），不用担心它会占据实验室太多空间。

RED 140 万像素科研级的传感器和创新的光学设计为成像带来了最大的灵活性，适用于实验室中常用的荧光标记。RED 整合的透射照明和白光照明光源加上 3 个方位的滤光轮，专为一系列紫外激发的荧光标记而设计。大部分 DNA 和蛋白凝胶的染料，如 EB、SYBR Green、SYBR Safe 和 Hoechst Blue 都适用。另外，RED 还擅长白光成像，如考马斯亮蓝或银染的蛋白凝胶。图像可以保存至 USB 记忆棒中，也可以直接打印。

RED 的创新设计也将易用性发挥到极致。无论是它的简单安装，还是直观的用户界面，整个系统都是即插即用。市场上大多数凝胶成像系统都需要专业的技术人员来进行安装，并要对操作人员进

行专门培训。RED 则不同，你只要将它从箱子里拿出来，插上插头，开机，就 OK 了。不需要阅读厚厚的说明书，也不用参加沉闷的培训班。成像控制也尽在指尖，就像 ATM 机取钱一样，只需在触摸屏上摁几下，就可以轻松获得图像。如此简单，菜鸟也能轻松掌握。

下面来听听用户的反馈：“RED 非常易用，即使是对新手或没有看过说明书的人。调整光圈、缩放、聚焦，以及照相、保存和打印图像，都是 user friendly。”

“RED 简单又时尚……它能够轻松放在实验室的任何地方，非常小巧。我喜欢它的用户界面，条理清楚、导航清晰，完全不用猜测。有了 USB 插口，数据传输非常快。RED 让人惊叹，对任何实验室都合适。我强烈推荐。”

如果你们实验室正缺一台凝胶成像仪，作为时尚达人的你，是不是已经有了心仪的选择呢？

（生物通 余亮）

你了解琼脂糖吗？

做生物实验的人对琼脂和琼脂糖一定都不会陌生。不过要让你说出它们两者的区别，我想不少人还会支支吾吾。反正不一样呗，培养基用的是琼脂粉，电泳用的是琼脂糖。具体有啥学问，听我一道来。

先来说说琼脂，它的英文名为 agar。这个词来源于马来语的 agar-agar，意思是胶状物。中国人亦称为洋菜或冻粉。日本人称之为寒天（kanten），因为它在冬天收获。台湾人叫它菜燕，和燕窝的质感差不多。韩国人的叫法是한천（不知道啥意思）。

琼脂作为一种独特的食品在我国已经有悠久的历史。它是从大型海洋藻类石花菜、紫菜、江篱等提取分离制成的，广泛应用于食品和生化等行业。我们常吃的果冻、冰淇淋、糕点、软糖、罐头、八宝粥中都含有琼脂。我国的山东、福建、广东、海南等拥有优越的海洋资源和气候条件，适宜大型海洋藻类的生长，是生产琼脂的主要地区，产品远销世界各地。

琼脂是由琼脂糖（agarose）和琼脂果胶（agaropectin）组成的。琼脂糖是线性的多聚物，基本结构是 1,3 连结的 β -D-半乳呋喃糖和 1,4 连结的 3,6-脱水 α -L-半乳呋喃糖。琼脂果胶是由许多更小的分子组成的异质混合物。它们的结构相似，但带硫酸根和羧基组分，凝胶能力差。

琼脂糖在水中一般加热到 90℃ 以上溶解，温度下降到 35-40℃ 时形成良好的半固体状的凝胶，这是它具有多种用途的主要特征和基础。琼脂糖凝胶性能通常用凝胶强度表示。强度越高，凝胶性能越好。质量较好的琼脂糖强度通常在 1200 克/cm² 以上（1% 胶浓度）。琼脂糖的凝胶性是由存在的氢键所致，凡是能破坏氢键的因素都能导致凝胶性的

破坏。

琼脂糖具有亲水性，并几乎完全不存在带电基团，对敏感的生物大分子极少引起变性和吸附，是理想的惰性载体。在琼脂糖制备过程中需要把琼脂果胶尽量去除，否则琼脂糖有可能存在极微量硫酸根和丙酮酸取代电离基团，就会造成电内渗（EEO），电内渗对质点的移动产生影响。质量较好的琼脂糖硫酸根含量比较低，通常在 0.2% 以下，电内渗比较小，通常在 0.13 以下。这也就是琼脂糖比琼脂贵那么多的原因了。

1937 年荒木第一次从琼脂中分离出琼脂糖，但直到 1961 年 Hjertin 首先发现了琼脂糖优异的使用性能后才引起了越来越多的关注，并开始工业生产。目前，琼脂糖广泛应用于临床化验、生化分析和生物大分子物质的分离等领域。

现在实验室中最常用的琼脂糖应该是西班牙 biowest 出产的。不过既然我国有这么丰富的海洋资源，就没理由让外国货专美。厦门太阳马公司最近成功研制出电泳级的 Fargarose™ 琼脂糖，完全可以与之媲美。我们将其主要的参数如凝胶强度和电内渗与 biowest 的琼脂糖进行了比较，发现同是 1% 的凝胶，Fargarose 琼脂糖的凝胶强度 (>1200 g/cm²) 远远大于 biowest 的 >750 g/cm²，而 EEO (0.13) 也小于 biowest 的 0.15。而其价格 (100g 230 元) 又低于 biowest (100g 约 300 元)。不愧是国际品质，本土价格。

产品特性：

- ◆透明度好：溶解快，胶液清澈透明
- ◆高强度：保证凝胶的强度与弹性，即使是低浓度的凝胶也不易发生破碎。
- ◆低电内渗：减少对电泳质迁物迁移与分离的影响。
- ◆极低的背景：没有其它荧光物质干扰，泳带与背景黑白分明，拍摄的图片效果好。
- ◆没有核酸酶和蛋白酶。

试用装派发中，赶快点击
<http://www.ebiotrade.com/custom/sunmabio/081104/index.htm>申请吧。

附录：凝胶制备方法

1. 配制适量的电泳及制胶用的缓冲液。根据电泳需要，配置合适浓度的电泳及制胶缓冲液。

注：用于电泳的缓冲液和用于制胶的缓冲液必须是相同的。

2. 根据制胶量及凝胶浓度，在加有一定量的电泳缓冲液的三角锥瓶中，加入准确称量的琼脂糖粉（总液体量不宜超过三角锥瓶的 50% 容量）。

3. 在微波炉中加热溶解琼脂糖

1) 胶液浓度<2%：设置高火加热，胶液沸

腾约 1 分钟直至琼脂糖胶液清澈，保证琼脂糖完全溶解。请戴上防热手套，小心摇动三角锥瓶，使琼脂糖胶液充分均匀。

2) 胶液浓度>2%：设置中火加热，胶液开始沸腾后，停止加热，移开三角锥瓶，小心摇动三角锥瓶，然后再次加热，胶液沸腾直至胶液清澈，保证琼脂糖完全溶解。

注：必须保证琼脂糖充分完全溶解，否则，会造成电泳图像模糊不清。加热时如胶液剧烈沸腾发泡，停止加热。微波炉中加热时间不宜过长。

3. 使溶液冷却至 60℃ 左右，如需要可在此时加入溴化乙锭(EB)溶液使其终浓度为 0.5ug/ml，并充分混匀。

注：溴化乙锭是一种致癌物质。使用含有溴化乙锭的溶液时，请戴用手套。

4. 将琼脂糖溶液倒入制胶模中，然后在适当位置处插上梳子。凝胶厚度一般在 3—5 mm 之间。

5. 在室温下使胶凝固（大约 30 分钟—1 小时），然后放置于电泳槽中进行电泳。

注：凝胶不立即使用时，请用保鲜膜将凝胶包好后在 4℃ 下保存，一般可保存 2~5 天。

(生物通 余亮)

病毒感染病毒 罗氏测序仪助力首个噬病毒体的发现

法国科学家利用罗氏公司的基因组测序仪，发现了一种小的病毒，能寄生在更大的病毒体内。这种 50nm 大小的病毒称为 Sputnik，与多食棘阿米巴模仿病毒（APMV）的一种新毒株有关，被认为代表了目前未知的病毒家族。这项名为《The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus》的研究刊登在 2008 年 9 月 4 日的《自然》杂志上。Sputnik 与模仿病毒的关系似乎有利于 Sputnik 的病毒复制。Sputnik 本身并不能在阿米巴细胞中很好地复制。然而，如果阿米巴还感染了这种模仿病毒，Sputnik 就能茁壮成长，并利用模仿病毒的病毒加工厂进行繁殖。由于这种生活方式类似于噬菌体，这个病毒也就被归为噬病毒体（Virophage）。

Sputnik 的基因组是由 454 测序仪测序完成的。它是 18 kb 的环状双链 DNA，包含了一些基因，与感染三种生物：真核、古细菌和细菌的病毒存在关联。因此，噬病毒体可能是介导基因在巨病毒之间横向迁移的媒介。这项研究为病毒间独特的相互作用提供了线索，暗示了这些传染介质的进化。

454 生命科学的总裁 Chris McLeod 指出：“这项研究是 454 测序促进生物学新领域发现的又一佐证。基因组测序仪系统的高准确性和读长让人们很容易地拼接这个新颖的病毒物种。我们对于病毒以及它们间相互作用的了解不断加深，也促进了传染病的防治。”

原文检索：The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus.

La Scola, B., Desnues, C., Pagnier, I., Robert, C., Barrassi, L., Fournous, G., Merchat, M., Suzan-Monti, M., Forterre, P., Koonin, E., Raoult, D. Nature, 2008, Sep 4. 455(7209): 100-104. DOI: 10.1038/nature07218

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)

近红外(NIR)光谱：现代科技在传统中药中的应用

正大青春宝药业有限公司是一家位于中国杭州的药业厂商，专门从事采用天然药草来制造传统中药。同时它也是中国最大的药业公司之一，工厂占地 120,000 平方米，厂房 130,000 平方米，并拥有超过 2500 名雇员。

正大青春宝公司以中外合资的形式运作，是一家世界著名的药业公司，其业务包括研究、制造和销售传统中药及西药。草药是中药的重要部分，是中医用来确定开药处方的理论。它包含西药未使用的很多成分，而这些成分具有很大的疗效。

该公司制造的产品适用于患者和一般消费者。为当地市场制造的消费者保健品系列也出口到美国、日本、东南亚、中东国家以及欧洲。其中药系列的研究和开发主要集中于心血管和脑血管药物。

正大青春宝公司拥有八间生产车间：其中一间制备车间负责清洗和浸泡原材料，如树皮和草皮；另一间提取车间负责炖蒸和提取样品的精华；其余六间是加工车间。所有的传统中药都先处理成液体形式，然后再加工成胶囊、药片和血管注射剂。最近，传统中药已通过将药草及成分转换为可溶解的颗粒和药片，进行了某些程度的现代化。

正大青春宝公司在其提取工厂执行样品分析，这是其制造流程的一部分，从生产线抽取样品并进行个别实验。虽然这是一个有效率的方法，但此类分析已证明非常耗时，导致该公司不得不寻求其他替代方法。

由于非常熟悉赛默飞世尔科技，包括它的具有成本效益的仪器和强大的客户支持，正大青春宝公司决定了购买 Thermo Scientific Antaris™。此 FT-NIR 分析仪允许直接在生产流程中进行样品的在线分析。自从运用该分析仪之后，正大青春宝

公司节省了大量的时间。

背景

在竞争非常剧烈的市场中，正大青春宝公司一直致力于生产高质量的产品。与西方文化和西药的接触并未取代传统中药的需求。事实上，传统中药中的活性成分研究现在正领导着西药的生产方式，例如青蒿素，该药物现在已用于治疗疟疾。这说明传统中药现在也正广泛被多个西方国家接受为一种有效的药物。

正大青春宝公司使用八种制剂方式制造约 97 种不同的产品。其中一项产品“青春宝抗衰老”片剂在中国是极度受到重视的保健品。该公司的目标是提升古代传统中药的效力，同时致力于从国外引进现代的世界级制造方法和先进的制药技术。它正努力于采用更现代化的方式来生产传统中药。

和所有的制药公司一样，正大青春宝公司也受到“优质生产规范”(GMP)指导原则的管制。该公司的先进生产设备、科学研究院、检查中心和计算机中心都依照 GMP 标准获得认证。GMP 指导原则要求所有制药公司必须提供适当的程序来保证每个样品。样品必须进行分析以确保产品的可靠性、质量和安全。早期用于试验个别原料的方法包括紫外线-可见光(UV-Vis)光谱、红外线光谱(IR)和气相色谱分析(GC)。

直到 2007 年为止，正大青春宝公司仍在使用需要依赖用稳定的控制时间、温度和溶媒量来分析

样品的技术，而缺少对其中有效成分的实时监视能力。目前在中国使用的大多数方法均原本设计用于化学药物，例如 HPLC（高效液相色谱分析）和 HRGC（高分辨气相色谱分析）。对于正大青春宝公司而言，这些方法都很没有效率，经常需要几个小时来分离和鉴定特定化合物。此外，由于个别指标只有成品可获得分析结果，因此，无法在生产过程中确认各工段中间体质量是否符合规格。这个过程只可以在最终分析时确认，而且若产品不符合规格，就必须重新开始整个生产流程，导致偶尔会浪费已经完成的产品。

指导原则现在建议将“近红外光谱”作为一种通用的方法，并且适合在各种环境中使用：

“……近红外光谱在食品、化学制品、农用化学品和石化产品工业中是非常有效的技术，而且现在也已经在制药工业中使用了很多年。该技术对于鉴定和化验制药物质、鉴定和化验成品中的这类物质，以及在处理过程中进行控制和监视非常有帮助。”EMEA，指导原则的注释。

在不断承受与传统方法有关的耗时问题之后，正大青春宝公司决定采用 NIR 作为节省时间和提高生产效率的目标。它需要一个仪器来处理这些特定需求，此外，也想要在新的技术领域中进行投资来与世界其他国家竞争。

选择

该公司需要一个绝对可靠的仪器，不但易于使用而且还必须提供精确的数据；实用性和可用性兼俱的仪器是必要条件。它需要尖端技术来补足生产中心包括各种学科的环境和卓越的核心设施。

因此，正大青春宝公司寻求具有足够快速和强大功能的 NIR 仪器，以允许其团队在线分析大量样品。他们需要可妥善处理所有样品类型的原始、重复的分析仪，以改善其生产流程的利益。

正大青春宝公司的副总裁王治先生表示：“正大青春宝公司自 2003 年开始就注意了 NIR 技术，并且渴望采用 NIR 光谱领域中的最先进仪器。”

刚开始的时候，正大青春宝公司从不同部门挑选 21 位专家，他们评估和分析了三家公司，并根据机器的可用性、实用性和价格等为这些公司分级。在经过一番仔细的考量之后，很明显的只有 Thermo Scientific 仪器可提供最能符合该公司的分析需求的最高质量、可靠性和稳健性。2007 年 5 月，在观察了该技术三年之后，该公司购买了功能强大的 Thermo Scientific Antaris MX FT-NIR 流程分析仪来进行在线样品分析。正大青春宝公司致力于达到西方发达国家的生产水平，而 Thermo Fisher 的仪器提供可帮助他们实现此目标的解决方案。

解决方案

正大青春宝公司需要可帮助确保其产品质量的解决方案。Antaris 通过结合高性能及合规性来制定标准。该公司使用 Thermo Scientific Antaris™ FT-NIR analytical system 直接在生产加工设施中执行样品分析，和基于实验室的传统、耗时方式比较，后者显得非常耗时。

王先生解释：“我们现在可以在生产流程中直接使用 NIR，而不再需要抽取样品。我们直接将探针放到管道中，由此即可进行在线分析。”

效益

使用 NIR 进行在线样品分析可节省大量时间，因为不需要取出个别样品进行试验。Antaris 可在生产的使用节点和实时程序中提供及时测量。节省时间可带来巨大的成本降低。

在质量方面，由于可以更有效的控制生产流程，因此使用 NIR 分析能够让正大青春宝公司制造标准更一致的产品。在流程中使用 NIR，可以检

查更大批量中的样品，从而更快提供结果。王先生认为：“自从我们可以使用标准的条件来控制生产流程后，产品质量更为一致。”

王先生相信 **Antaris** 为正大青春宝公司提供的重要效益是它的快速反应。**NIR** 只需少于 30 秒的时间即可分析数据，从而提供更好的控制。因此，最终产品的质量获得了增强，也提高了客户满意度。此外，由于分析是在实时进行，因此成品的浪费将可减少，因为它们在流程的较早时候即可证明符合规格，如此不但有利于财务效益也可使该公司更具环保效益。

Antaris MX FT-NIR 分析仪大大减少了正大青春宝公司的样品分析时间，因此也大量节省了人力和设备。它还可以让企业符合要求特征化个别样品的管制指导原则。使用 **Antaris** 之前，需要在分析实验室中消耗大量时间以对每个样品执行个别分析。

王先生强调：“**Antaris** 可大大减少分析时间。我们亲眼见证了如何从原料中分解成分；我们可以看到达到特定参数的程度，因此我们可以保证产品是否符合规格。这在从前是绝对不可能的。”

未来

使用 **Antaris** 分析仪和简化工作流程所带来的节省时间，使正大青春宝公司非常赞赏并正在计划也在原料检查流程中使用该分析仪。不良的原料检查很容易导致药品污染。**NIR** 是快速和可靠原料鉴定的理想方案，也是可进行精确多成分定量分析的功能强大分析工具。在未来，正大青春宝公司希望能够利用 **NIR** 在更大范围和更短时间内专门检查原料。这将可以进一步改进其产品的安全和质量。

王先生表示：“我们特地为提取工厂购买了 **NIR** 分析仪。我们目前正在探讨如何在 R&D（研究与开发）、QA（质量分析）和 QC（质量控制）中使用该分析仪。无论如何，该仪器的可用性是无庸质疑的。使用 **Antaris** 的过程非常顺利和成功。”正大青春宝公司很有兴趣了解可以如何通过使用该分析仪来进一步简化其制造流程。

结论

在该特殊应用中，**NIR** 光谱可以提供更快的方式来取代非常耗时的液相色谱分析。该分析仪可以让正大青春宝公司执行使用节点近红外路径试验和在线流程分析，并且可以优化用于多种类型的分析，包括原料、在线流程分析，以及流动触发探针操作。

Antaris FT-NIR 分析仪专为在制药业的工业环境中使用而精心设计，因此，**NIR** 分析对于传统中药的制造具有意义非常重大的影响。在分析和量化用途中使用尖端技术，不但可以大大增强正大青春宝公司的生产流程，也将改变全世界传统中药的发展。

通过使用 **Antaris**，正大青春宝公司现在可以节省大量的样品分析时间，此外，还减少了浪费并将尖端技术带入其生产线中。该公司现在已可以在其制药工厂中对原料执行非常精确的分析和质量控制，并且可以帮助实验室和制造部门的员工改进生产效率。

参考资料

1. <http://en.wikipedia.org/wiki/Artemisinin>

2. EMEA, 制药工业使用 **NIR** 光谱的指导原则注释，以及新提交和差异的数据需求。

ABI 加盟药物毒性筛选

药物毒性是临床前药物失败的主要原因，每年致使制药企业损失数亿美元。美国 FDA 和其他监管机构敦促制药企业开发出更有效的工具来降低失败化合物的数量，让药物尽快推向市场。为了迎接这个挑战，ABI 公司联合 Asuragen 公司（一家药物基因组服务的供应商）与美国关键途径研究所（Critical Path Institute, C-Path）的预测安全性检测协会（Predictive Safety Testing Consortium）合作，共同开发预测性的基因特征组，让制药企业能快速筛选出潜力药物的毒性作用。

C-Path、ABI 与 Asuragen 将合作开发一组分析，来研究与大鼠致癌性相关的基因靶点。这次合作将利用 ABI 的分析来判定和区分遗传毒性和非遗传毒性的作用方式，以协助评估风险。这个新的生物标记物组将基于 ABI 的 TaqMan Gene Signature Array 和实时定量 PCR 技术。

越来越多的研究人员正使用 ABI 公司金标准的 TaqMan 化学为基础的 RNA 分析工具来开发有潜力的生物标记。在这个项目中，ABI 向 PSTC 的科学家们提供了 TaqMan Gene Signature Array。PSTC 的科学家将利用这个 RNA 表达分析的集合来开发生物标记组，用于筛选临床前样品中潜力药物的致癌作用。

ABI 公司功能分析部的总裁 Peter Dansky 表示：“有助于毒性早期预测的生物标记物将帮助制药企业更好地选择化合物，并有助于早期启动风险评估工作。对于那些需要可靠和高灵敏度的检测系统的应用，如高通量药物筛选，我们将继续扩大

TaqMan Array 的范围。”

美国关键途径研究所是非盈利性的研究和教育研究所。它成立于 2005 年，目的是为了支持工业、科研和政府科学家之间的合作。预测安全性检测协会（PSTC）由 C-Path 建立，它让大型的制药企业与 C-Path 合作，并与 FDA 配合。它的目标是促进知识和资源的交换，以加速药物开发，并改善药物安全性。

PSTC 的主管 William B Mattes 博士表示：“我们希望这次合作有助于毒性生物标记在企业中的大规模利用，以便在临床前研究中早期预测并了解潜在的致瘤物。”

开发药物毒性筛选的工具还包括产生和分析海量的分子数据。Asuragen 将为此贡献关键的实验室服务、药物基因组技能和生物信息处理。

（生物通 余亮）

Sanger 研究院再购 11 台 Illumina 测序仪

Illumina 公司昨天宣布著名的 Wellcome Trust Sanger 研究院再次购进了 11 台 Genome Analyzer，这样 Illumina 的测序仪数量就增至 37 台。Genome Analyzer 的持续增加将协助 Sanger 研究院完成许多创新的计划，如千人基因组计划。

Sanger 研究院是欧洲最主要的基因组中心之一，资金主要来自 Wellcome Trust 基金会。Wellcome Trust 是英国最大的独立基金会，也是世界上第二大的医学研究基金会。

“Sanger 研究院在产生和分析基因组数据方面扮演着重要的国际角色。我们还将迎来新的挑战，要在合适的新技术上投资。”Sanger 研究院测序部的主管 Julian Parkhill 教授认为，“我们正在努力扩展我们的能力，来进行多项计划，如人和小鼠的基因组重测序，病原菌的基因组学和遗传学以及癌症遗传学，以及执行我们自身的研究计划。”

Genome Analyzer 目前已经广泛应用于全世界的基因组中心，包括普通实验室、服务机构、生物技术公司及药厂。该系统的突破性能已经通过前沿杂志的一系列文章所证实。在 11 月 6 日的《Nature》杂志上，刊登了首个汉族人基因组、癌症病人基因组和非洲人基因组的图谱。它们都是通过 Illumina 的 Genome Analyzer 完成的。

Genome Analyzer 应用广泛。科学家们利用

它来发现新的 miRNA，创建出基因组范围的高分辨率的 DNA-蛋白结合位点图谱，以及测序整个人类基因组，覆盖率达 30 倍以上。

更多关于 Genome Analyzer 的信息及它的应用文献，请访问 www.illumina.com/sequencing。

关于 Illumina

Illumina 公司 (www.illumina.com) 是全球领先的新一代生命科学工具的开发和生产者，并开发大规模分析遗传变异和生物功能的集成工具。我们利用专利技术，为测序、基因分型和基因表达提供全面的产品和服务，还将进入分子诊断市场。我们的客户包含一流的基因研究中心、药厂、研究院、临床研究机构和生物公司。我们的工具有足够的表现力、通量、成本效益和灵活性，使全世界的研究者能通过遗传实验来得到有价值的信息。我们相信这个信息能使研究者把遗传变异与生物功能关联起来，从而加大药物开发和临床研究，让疾病能更早地检测出来，为患者提供更好的药物。

(生物通 余亮)

Sigma-Aldrich 公司和 ECACC 达成 战略合作协议

Sigma-Aldrich 公司宣布：Sigma-Aldrich 公司和 European Collection of Cell Cultures (ECACC) 达成战略合作协议。

通过本次合作，Sigma-Aldrich 公司将独家代理 European Collection of Cell Cultures (ECACC) 细胞培养产品，为生命科学研究者提供高质量细胞培养产品。ECACC 拥有 40,000 种细胞株，产品覆盖了 45 种不同种属和 50 种不同组织类型。所有细胞株都适用于任何 Sigma-Aldrich 培养基并且所有细胞株都经过严格质检认证，运输过程确保可靠快捷。

本次 Sigma-Aldrich 和 ECACC 的携手合作将能为客户提供更全面更可靠的细胞培养产品，帮助推动生命科学的研究发展。

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ECACC: European Collection of Cell Cultures(ECACC)成立于 1984 年，致力于为广大生命科学研究者提供高质量细胞培养产品。过去的 20 年内 ECACC 已成为全球最大细胞培养产品供应商之一。更多详细信息请访问：
<http://www.ecacc.org.uk>

在本次发布的新闻中含有一些前瞻性声明，包括：与公司计划、未来行动、目标、未来事件预测相关的前瞻性声明和有关公司运作和服务条件假设的前瞻性声明。Sigma-Aldrich 公司对前瞻性声明的更新不承担任何义务。

赛默飞世尔科技与 Genentech 合作开发创新的 siRNA 治疗技术

赛默飞世尔科技——全球科学服务领域的领导者，已经开始与 Genentech 公司合作，开发创新的小干扰 RNA (siRNA) 治疗技术。

根据合作协议，赛默飞世尔科技将从位于科罗拉多州 Lafayette 的 RNAi 研发与治疗服务实验室，向 Genentech 提供 siRNA 的设计、稳定化、转染以及相关的 RNAi 技术。Genentech 将利用这些技术开发潜在的基于 siRNA 的药物，这种药物将通过降低或抑制致病基因的表达来发挥功效。这项研究对那些传统技术还无能为力的疾病开拓了药物研发的新途径。

“我们相信 Genentech 和赛默飞世尔科技之间的合作，标志着两家志在推动 siRNA 药物技术发展的最前沿创新者的联合”赛默飞世尔科技全球研发副总裁 Lan Jardine 说，“通过结合 Genentech 在生物治疗开发方面的专长，和赛默飞世尔科技在 RNAi 以及 RNA 化学方面的实力，我们希望极大地提高这项前景广阔治疗技术的等级。我们和 Genentech 的工作将集中在开发上，使靶基因验证的体内实验和 RNAi 技术在治疗人类疾病的广泛应用成为可能。”

关于赛默飞世尔科技

赛默飞世尔科技有限公司 (Thermo Fisher

Scientific Inc.) (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变得更健康、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，为 350,000 多家客户提供服务。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、研究院和政府机构以及环境与工业过程控制装备制造商等。该公司借助于 Thermo Scientific 和 Fisher Scientific 这两个主要品牌，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 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工作流程综合解决方案。Fisher Scientific 则提供了一系列用于卫生保健，科学研究，以及安全和教育领域的实验室装备、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，并提升客户价值，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，请浏览公司网站：
www.thermo.com (英文), www.thermo.com.cn (中文)。