

EBIOTECH

生物通技术周刊

第49期

2008年10月27日

【技术前沿】

新一代测序技术之三国时代（上）：Illumina

“飞”一般的克隆

轻松实现长片段的克隆

【新品速递】

Invitrogen体内转染试剂闪亮登场

选耗材也不能马虎

快速有效地进行RNA线性扩增

Illumina推出细胞遗传学研究用芯片

Millipore推出全新的趋化因子受体定量试剂盒

【行业动态】

看看谁更抵 年终大促盘点

Broad研究院再添5台SOLiD系统

ABI灵敏度最高的液相色谱质谱联用仪被Cyprotex率先引进

赛默飞世尔科技收购Raymond A. Lamb公司

主办：



生物通版权所有 谢绝转载 本期责编:余亮 制作:吴春红
广告联系电话:020-87511980 欢迎访问:www.ebiotrade.com

新一代测序技术之三国时代（上）： Illumina

Illumina 公司的新一代测序仪 Genome Analyzer 最早由 Solexa 公司研发，利用其专利核心技术“DNA 簇”和“可逆性末端终结（reversible terminator）”，实现自动化样本制备及基因组数百万个碱基大规模平行测序。Illumina 公司于 2007 年花费 6 亿美金的巨资收购了 Solexa，就是为了促成 Genome Analyzer 的商品化。Genome Analyzer 作为新一代测序技术平台，具有高准确性，高通量，高灵敏度，和低运行成本等突出优势，可以同时完成传统基因组学研究（测序和注释）以及功能基因组学（基因表达及调控，基因功能，蛋白/核酸相互作用）研究。

Genome Analyzer 自上市以来，已经为千人基因组计划立下了赫赫战功。今年早期，荷兰科学家利用它首次绘出女性的基因组图谱。而就在前两周，《Nature》杂志上一连出现三个人类基因组图谱：炎黄一号-第一个亚洲人图谱；第一个癌症病人图谱；第一个非洲人图谱。它们全是依赖 Genome Analyzer 完成的。哗，一下就来仨！这和第一个人类基因组图谱的 13 年形成了多么鲜明的对照。英国著名的 Sanger 研究院原本有 26 台 Genome Analyzer，前些天大手笔又买了 11 台，血拼也不过如此吧。虽然我们没有人家那么资金雄厚，起码我们也要了解一下 GA 的原理，以后不至于贻笑大方。



Genome Analyzer 技术的基本原理：

1. 文库制备

将基因组 DNA 打成几百个碱基（或更短）的小片断，在片断的两个末端加上接头(adapter)

2. 产生 DNA 簇

利用专利的芯片，其表面连接有一层单链引物，DNA 片断成单链后通过与芯片表面的引物碱基互补被一端“固定”在芯片上。引物扩增使得单链 DNA 成为双链，该双链变性后成为单链，其一端“固定”在芯片上，另外一端（5'或 3'）随机和附近的另外一个引物互补，也被“固定”住，形成“桥（bridge）”。反复 30 轮扩增，每个单分子得到了 1000 倍扩增，成为单克隆“DNA 簇”

3. 测序

四种荧光标记的染料应用边合成边测序（Sequencing By Synthesis）的原理，在每个循环过程里，荧光标记的核苷和聚合酶被加入到单分子阵列中。互补的核苷和核苷酸片断的第一个碱基配对，通过酶加入到引物上。多余的核苷被移走。这样每个单链 DNA 分子通过互补碱基的配对被延伸，利用生物发光蛋白，比如萤火虫的荧光素酶，可通过碱基加到引物后端时所释放出的焦磷酸盐来提供检测信号。针对每种碱基的特定波长的激光激发结合上的核苷的标记，这个标记会释放出荧光。荧光信号被 CCD 采集，CCD 快速扫描整个阵列检测特定的结合到每个片断上的碱基。通过上述的结合，检测可以重复几十个循环，这样就有可能决定核苷酸片断中的几十个碱基。

4. 数据分析

自动读取碱基，数据被转移到自动分析通道进行二次分析。

Genome Analyzer 的技术优势:

1. 可扩展的超高通量

Genome Analyzer 系统每次配对末端运行后可以得到超过 3GB 的高品质过滤数据。这个技术的可扩展性保证了更高的数据密度和输出,能用更少的经费完成更复杂的项目。

2. 需要样品量少

Genome Analyzer 系统需要的样品量低至 100ng,能应用在很多样品有限的实验(比如免疫沉淀、显微切割等)中。

3. 简单、快速、自动化

Genome Analyzer 系统提供了最简单和简洁的工作流程。即使是最小的实验室也能像基因组中心一样进行大规模的实验。制备样品文库可以在几小时内完成,一个星期内就能得到高精确度的数据。Cluster Station 可以说是 Genome Analyzer 的核心。由独立软件控制的自动生成 DNA 簇的过程可以在 5 小时之内(30 分钟手工操作)完成,并同时处理 8 个样品。这个自动化的流程不需要进行油包水 PCR,减少了手工操作误差和污染可能性,不需要机器人操作或洁净室。快速的实验流程使 Genome Analyzer 的能力增至最大,而自动化步移降低了项目的时间和费用。

4. 新颖的测序化学技术

Genome Analyzer 通过合成测序来支持大规模并行测序。利用新颖的可逆荧光标记终止子,可以在 DNA 链延伸的过程中检测单个碱基掺入。由于四个可逆终止子 dNTP 在每个测序循环都存在,自然的竞争减少了掺入的误差。

5. 高产量的有效数据

测序系统产生的原始数据的质量是评价实验是否成功的最重要因素。Illumina Genome Analyzer 系统在一个配对末端运行之后能产生超过 3GB 的碱基数。高质量的数据以及每个碱基的质量度量,意味着可以用更少的运行和更大的信心来完成这个实验。

6. 单个或配对末端支持

Genome Analyzer 系统支持单个片段或配对末端文库。文库构建过程简单,减少了样品分离和制备的时间。制备基因组 DNA 的单个片段或配对末端文库需要 6 个小时,只有 3 个小时需要手工操作。2×36 个碱基或更长的片段增加了比对基因组的能力,并拓展了在其他方面的应用。

7. DNA 分析支持

Illumina 提供了测序系统的分析软件和硬件,用于从原始数据中快速获得可发表的、生物学有意义的结果。IPAR(整合的初级分析和报告)系统提供了初级数据输出的实时图像分析。图像分析之后,Pipeline 软件自动进行碱基读取和与参考序列进行比对。BeadStudio 单元针对不同应用对序列数据进行直观的二次图像分析。

Genome Analyzer 系统在高通量,高精度,大规模平行测序的基础上,可以完成以下应用:

DNA 水平

a. 基因组测序及注释

b. 定向基因区域重复测序 – 判定和发现新的基因多态性(如 SNP)

c. 大规模筛查基因突变和基因多态性

d. 利用 SNP 进行表型相关性的研究

e. 基因组甲基化分析

RNA 水平

a. 全基因组广谱基因表达研究

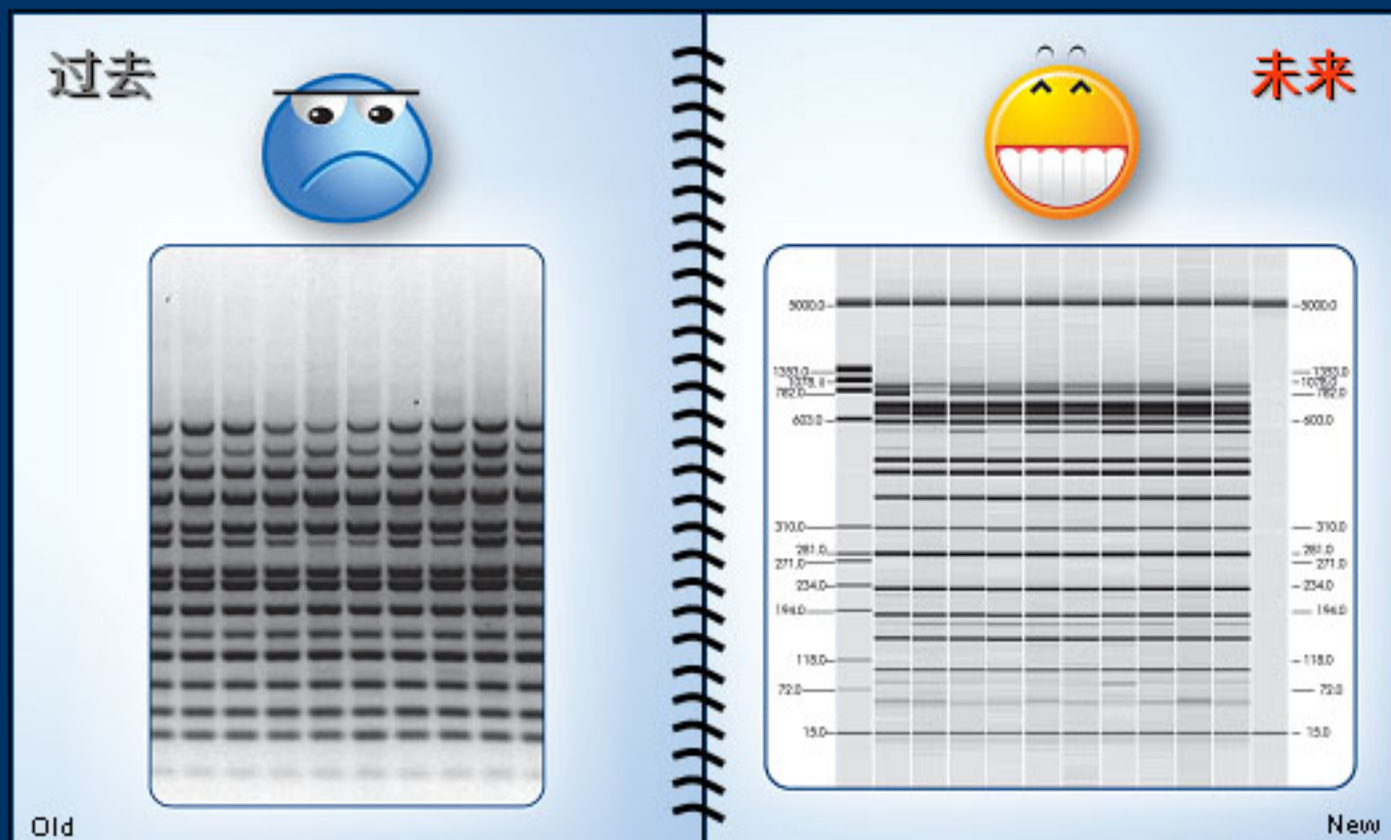
b. 小 RNA 扫描,定量,和鉴定

蛋白水平

a. 核酸和蛋白相互作用及定位研究(如 ChIP-Seq 研究)

(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！

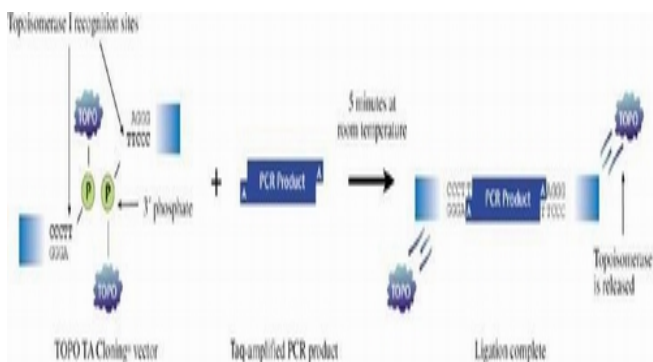
更多QIAxcel信息请点击进入>>

“飞”一般的克隆

你的克隆速度有多快？人类的百米速度已经跨越了 9 秒 70 的大关，如果你的克隆速度还停留在两天，那似乎是有些 out 了。无论是传统的 TA 克隆，还是改进版的其他克隆，现在都可以实现 5 分钟的快速克隆。

最负盛名的 5 分钟克隆应属 Invitrogen 的 TOPO 克隆了。1997 年上市掀起了一场克隆的革命。至今十余年间，发文无数，一跃成为最常用的克隆方式之一。TOPO 载体的种类还在不断增加，应用范围包括普通的亚克隆、测序、体外转录和表达等。

TOPO 克隆的核心是 DNA 拓扑异构酶 I，它同时扮演了限制性内切酶和连接酶两个角色。它的生物功能是在复制过程中切断并重新连接 DNA。牛痘病毒拓扑异构酶 I 特异性地识别 5'-(C/T)CCTT-3' 序列，与 3'T 的磷酸基团形成共价键，并切断一条 DNA 链，使 DNA 解链。随后它从 DNA 末端撤离。为了利用拓扑异构酶的连接活性，TOPO 载体被线性化，并在每个 3'磷酸基团上连接了拓扑异构酶 I。这样能确保载体与互补末端的迅速连接（图 1）。整个连接过程只需要 5 分钟，



就是这么简单。

如果你用的是 TOPO 版的 TA 克隆，那么基本过程与 TA 克隆相似，注意事项可以参考 TA 克隆的策略。唯一不同的是连接过程。首先是离子浓度。

Invitrogen 的实验证明高盐浓度（200 mM NaCl、10mM MgCl₂）能使转化子增加 2-3 倍。因为盐能够防止拓扑异构酶 I 在连接之后，重新结合模板并切割 DNA。结果产生了更多完整的重组子，转化效率自然也提高了。不过电转所需的盐浓度比化学转化低，这一点要特别注意。其次是连接时间。对于大部分实验来说，5 分钟已足够。如果 PCR 产物大于 1 kb，将连接时间延长至 30 分钟能产生更多的克隆。最后强调一下反应温度。T4 连接酶不能超过 16℃，而拓扑异构酶 I 则偏爱室温。这个室温是指 22-23℃，应特别注意。很多时候我们实验室的室内温度并不满足条件。TOPO 克隆得到的菌落可能不如 TA 克隆多，不过质量高，95%左右都是重组子。价格约为 5748 元/20 次，时间就是金钱，这下体会到了吧。

如果你用的是高保真酶，你可以选择在 PCR 之后加 A，或者你直接选择平端克隆试剂盒。由于载体会自连，所以平末端克隆的背景会很高。为了避免这个问题，Invitrogen 开发了 Zero Background（零背景）技术，用在 TOPO 载体上。这个技术将 LacZα 和致死的 ccdB 基因串联在一起。如果载体自连，ccdB 基因表达，菌落就无法生长；如果插入片段，ccdB 基因的表达被破坏，重组子才得以生长。这样，就避免了平端克隆的高背景，使重组效率达到 95% 以上。这个试剂盒的价格更贵一些，20 次的是 6240 元。

TA 克隆以其简单快速而深得人心，不过有利

即有弊。TA 克隆无法定出方向，重组子中正反方向的约各占一半。如果仅仅是克隆也无所谓，表达可就不能这么随便了。因此 TOPO 系列也推出了定向克隆的版本，简称为 D-TOPO。在这个系统中，克隆载体的一端有着 GTGG 的垂悬。PCR 的正向引物上也添加了 CACC 四个碱基。这样，通过碱基互补配对，就锚定了 PCR 产物处于正确的方向。而克隆效率也在 90%或以上。引物设计也不麻烦，只需在正向引物的 5'端加上 CACC 四个碱基即可。不过反向引物的末端可一定不能与 GTGG 配对，否则前功尽弃。仅仅只有一个错配也不行，克隆效率会从 90%降到 50%。为保险起见，最好能与 GTGG 保持两个碱基以上的错配。D-TOPO 主要用在表达载体上，价格约在 4000-6000 元不等。

以往的 TOPO 克隆市场总是 Invitrogen 一家独大。前两年 Stratagene 公司也推出了 5 分钟的 StrataClone 技术，与之抗衡。StrataClone 的原理与 TOPO 克隆类似，但也不完全相同，估计是专利的问题。它也是利用了牛痘病毒的拓扑异构酶 I 的连接功能。不过载体分成了两段，每一段的一端连着拓扑异构酶 I 和 U 尾巴，另一端则包含 loxP 识别序列。PCR 产物通过 A-U 互补而形成一条线性分子（载体臂-PCR 产物-载体臂）。这时转化进表达 Cre 重组酶的感受态细胞。在 Cre 重组酶的作用下，loxP 位点发生重组，产生可复制的环状

分子。这个过程似乎要稍微麻烦一些，而且对感受态细胞还有要求，一定要表达 Cre 重组酶。我们常用的 TOP10、JM109 等就不能用了。不过它胜在价格便宜，20 次的价格为 4084 元，还经常打折。

不花钱购买新载体，也一样能实现 5 分钟的克隆。NEB 公司的快速连接试剂盒就不可小觑。它其中的 T4 连接酶浓度竟然高达 2000 U/ul，是其他厂家的 400 倍。因此连接效率也陡然上了一个新台阶，从原先的过夜孵育缩短到 5 分钟。使用的时候一定要注意了，不要觉得时间太短，自作主张延长一会儿，其实根据 NEB 专家的研究，延长时间并不会带来积极的作用。事实上，2 小时以后连接效率反而开始下降，过夜连接会使效率下降 75%。这个试剂盒的价格是 1009 元/30 次，相对于上面那些大牌来说，这个价格很亲民吧。不过它只含有 T4 连接酶和 buffer，载体和感受态细胞就不包括在内了。

5 分钟的克隆，够快不？还不够？那我们就拭目以待吧，看什么时候有新产品推出，打破 5 分钟的极限，实现 1 分钟或几秒钟的克隆。快速的克隆就谈到这里。下一篇我们会聚焦长片段的克隆，让你轻松应对长片段。

（生物通 余亮）

轻松实现长片段的克隆

如果你的目的片段大于 5kb，那么注定你会比别人多一份艰辛。长片段的扩增与克隆都并非易事。现在前面的问题已经基本解决了。许多 DNA 聚合酶都可以扩增长片段，30kb 也不在话下。广告说的好，比你想象的更长。而且高保真酶的保真效率也不断提高，再也不用害怕 PCR 产物频频突变了。不过，长片段的克隆还是个棘手的问题。片段越长，克隆效率越低。这似乎成为了一可怕的魔咒，环绕着研究人员。

然而，在克隆中讲究合适的策略，并辅以恰当的产品，打破魔咒并不是问题。首先，为了增加克隆效率，长片段 PCR 产物最好经过跑胶纯化。但在传统凝胶电泳中，结合了 EB 的 DNA 需要暴露在紫外光下，会造成 DNA 损伤，并显著降低克隆效率。短的 PCR 产物还不打紧，这对长片段来说是致命的。为了避免这个问题，我们可以换个染料。结晶紫就是个不错的选择。结合了结晶紫的 PCR 产物能在普通灯下观察，呈现紫色条带。在跑胶的过程中，我们能清楚地观察到 PCR 产物的位置，一旦与其他条带很好地区分，就可以切胶纯化了。不过结晶紫的灵敏度不如 EB，200ng 的 DNA 才勉强可见。所以长片段的 PCR 产物还是多多益善。另外，结晶紫可不适用于平时我们用的 loading buffer，因为其中的溴酚蓝或二甲苯蓝会与结晶紫相互作用，使 DNA 条带失真。6×loading buffer 的配方是 30% 的甘油、20 mM EDTA 和 100 ug/ml 结晶紫。其次，对于 10 kb 以上的质粒，电转的效果会比化学转化好。

Invitrogen 的长片段克隆试剂盒中就包含了结晶紫染料。这个试剂盒名为 TOPO XL PCR Cloning Kit，XL 以示与其他试剂盒的不同。它适用于 3-10 kb 的片段，原理也是 5 分钟的 TOPO 克隆。只要带有 A 尾巴的 PCR 产物就行，无需对引物进行特别设计。载体上 LacZa 片段的 C 端还融合了 ccdB 致死基因。长片段 PCR 产物的连接会破坏 lacZa-ccdB 基因的表达，这样转化之后平板上出现的都是阳性克隆，连蓝白斑筛选都省了。价格是 4320 元/10 次，确实挺贵。

Clontech 公司著名的 In-Fusion PCR 克隆试剂盒也能对付 12 kb 以下的片段。In-Fusion 技术

设计巧妙，操作简单方便，不需要借助任何限制性内切酶、连接酶、或者磷酸化、补平末端等手段，利用 Cre 重组酶完成 PCR 产物与载体的同源重组，30 分钟内能将任何 PCR 产物片断精确地定向克隆到任何你想要的载体上。克隆的位置不受酶切位点的限制，也不需要另外购买 T 载体，因此成为最受欢迎的克隆产品。试剂盒中专利的 Cloning Enhancer 能消除质粒 DNA 背景和 PCR 残基，省却了 PCR 产物纯化的步骤，也避免了长片段 PCR 产物的损失或损伤。而且，它处理过的样品能产生更多的重组克隆，对长片段特别有利。目前的售价是 1689 元/10 次。

如果你的目的片段大于 12 kb，那也不用崩溃，罗氏的 Expand Cloning Kit 能克隆 7-36 kb 的 DNA 片段。它的特别之处就在于抛弃了传统的质粒，使用了特殊设计的粘粒载体。PCR 产物经过打磨去掉 A 尾巴后，可与平末端的 Expand 载体连接。Expand 载体有 I、II、III 三种形式，大小不同，分别能克隆 7.0-16.5 kb、16.5-25 kb、25-36 kb 的长片段。重组粘粒随后包装进 λ 噬菌体，并感染大肠杆菌。通过抗生素筛选即可得到阳性克隆。整个过程涉及到粘粒和噬菌体，就比传统的克隆复杂了很多。噬菌体的操作也要特别小心，以免感染了实验室中其他的大肠杆菌。此产品价格不菲，10 次反应高达 7293 元。唉，没办法，谁叫你的片段那么长呢。

长片段的克隆虽然不易，但也并非不可能的任务。除了小心操作外，关键是要选对合适的产品和技术。当然，也还需要一点点好运气。祝你好运！

（生物通 余亮）

Invitrogen 体内转染试剂闪亮登场

Invitrogen 公司庞大的转染试剂家族又添新成员。昨天，Invivofectamine 导入试剂上市了。物如其名，in vivo 表明它是用于体内转染的试剂，不过，它只能用于 siRNA 的转染，不能用于质粒的转染。

近年来，RNA 干扰的研究一直非常热门。RNAi 改变了生物学，让研究人员能直接观察到特定基因功能丧失所产生的结果。以前，这项研究大多在体外进行。市面上的转染试剂也大多不支持体内转染。因此动物模型的研究者急需一种转染试剂，能将 siRNA 导入体内。

Invivofectamine 导入试剂是第一个能满足上述要求的产品。它能直接注射到体内，让研究人员研究 siRNA 的活体效果。它还能增加 siRNA 的稳定性，让 siRNA 不易被降解，直接到达作用靶点，行使 knockdown 的作用。Invivofectamine 不是病毒，毒性也很小。

Invivofectamine 的优势：

- 使用简单——只需将 Invivofectamine 试剂与 siRNA 混合，室温孵育 30 分钟，稀释过滤，就能直接注射到体内。

- 行之有效——多个实验证实，在肿瘤、肝、肺、肾脏、脾脏中的干扰效果大于 60%。示例：将 Invivofectamine 试剂与 Invitrogen 专利的

Stealth RNAi 分子混合，并直接注射到肿瘤，24 小时后收获肿瘤，用流式细胞仪分析转染效果，发现有 70% 的肿瘤细胞已经被转染。荧光定量 PCR 结果显示干扰效果达到 68%。

- 不会引发干扰素反应——专利的 Stealth RNAi 分子经过化学修饰，去除了会引起免疫反应的某些序列。Invivofectamine 与 Stealth RNAi 的组合不会引发干扰素反应，让研究人员能更确信实验结果是由 knockdown 引起，而不是非特异的毒性反应。

Invitrogen 分子生物学的副总裁 Charles Piazza 对此发表评论：“Invivofectamine 是一个重大突破，为 RNAi 的活体应用铺平了道路，将带来疾病新疗法的迅猛发展。Invivofectamine 试剂让客户能进行 RNAi 体内实验，而目前由于缺乏易用的导入试剂，这类实验一直无法进行。”

更多关于体内转染的步骤以及常见问题解答，请参看www.invitrogen.com/invivornai。

（生物通 余亮）

选耗材也不能马虎

塑料消耗品虽然不大起眼，却在我们的实验中起了举足轻重的作用。有了吸头，我们才能准确地量取样品和试剂；有了多孔板，我们才能进行 PCR；有了 EP 管，我们才能保存珍贵的质粒和菌种；有了深孔板，我们才能小体积培养细菌……。不要以为除了细胞培养的耗材，其他消耗品都可以随便选择，越便宜越好。其实，选择耗材也是一门学问。比如你要考虑它是否能承受实验中的高温或低温，它是否会非特异性地吸附你的 DNA 或蛋白。而这些特性会潜在影响你的实验结果。下面我们就来介绍一些最新上市的塑料消耗品。

改变你对深孔板的看法

Eppendorf 公司的深孔板有 4 种形式：96/2000, 96/1000, 96/500 和 384/200，前者是孔数，后者是容积 (ul)。它们适用于所有手动或自动的操作，从零下 80 度的样品储存到高达 100 度的 DNA 变性，都绝不含糊。专利的 OpiTrack matrix 设计，采用 5 种不同的边框颜色和反差明显的数码标记，耐 UV 和化学腐蚀。即使在视线不好的条件下（生物安全柜、护目镜等）也能快速识别和定位样品，减少错误率。同时，你还可根据不同的项目、实验和使用者进行样品分类，提高工作效率。当然，五彩斑斓的颜色也为乏味的实验增添了几分乐趣。



Eppendorf 选用高纯度聚丙烯材质，并优化了深孔板的几何设计——将所有表面进行圆边平滑处理（同样适用于方井），从而避免发生样品残留和毛细现象，提高样品的回收率，降低交叉污染率。另外，还特有低蛋白吸附深孔板，避免蛋白吸附，

以及低 DNA 吸附深孔板，用于 DNA、RNA 和核酸样品。其他特点还包括硬度高、死角最小、符合 SBS 标准、即使叠加放置也不会产生“井塌”现象。

无需担心移液损耗

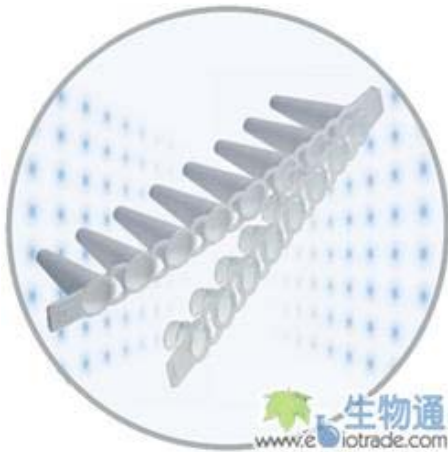
Eppendorf 新型的 epT.I.P.S. LoRetention 吸头采用独一无二的创新材质处理技术，未经硅化处理，将样品在吸头内壁的残留量降到最低，帮助你实现几乎 100% 的样品回收。与普通吸头相比较，可以最大程度地减少样品损失，提高实验可重复性并显著减低实验成本。据计算，在定量 PCR 时最多能节约 5% 的试剂用量，日积月累，这可不是个小数目。



epT.I.P.S.LoRetention 吸头经过特殊的“珠光效应”技术处理，具有高疏水性和极均匀的表面。同时，epT.I.P.S.LoRetention 吸头表面未涂层，未经硅化处理，不含添加剂，因而不会污染样品。完

美的移液过程，确保几乎无液体残留在吸头中。

定量 PCR 管的新选择



在 PCR 尤其是定量 PCR 中，PCR 管的质量会直接影响实验结果。Eppendorf 公司新推出了专门用于定量 PCR 的八联管和盖子。八联管的壁非常薄，传热极佳。而盖子的光学窗口有着极好的光透射度，激发光和荧光能更有效地穿透盖子。研究数据表明盖子的光透射率超过了 90%。盖子的设计也颇为特别，光学窗口向下凹陷，低了几微米。这样能防止光学窗口被刮擦，或光学表面被污染。

（生物通 余亮）

快速有效地进行 RNA 线性扩增

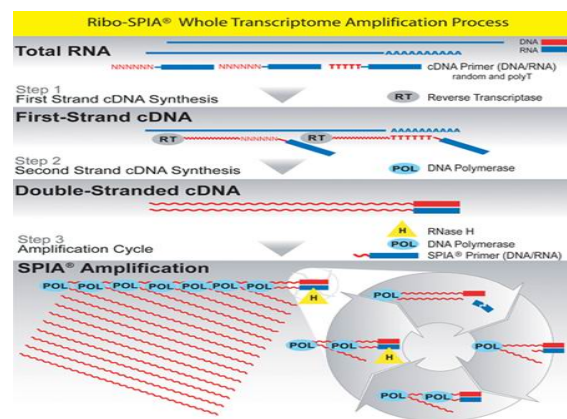
2008 年 11 月 18 日, 罗氏公司推出一款 RNA 预扩增试剂盒——LightCycler RNA Pre-Amplification Kit。它为 cDNA 的制备以及随后的基因表达分析提供了简单而又快速的方法。

现在, 对临床的组织或血液样品进行基因表达研究的分析已经成为大势所趋。这些研究能鉴定新的分子靶点并改善分子诊断的工具。然而, 临床样品通常体积受限, 质量不高, 而通常也不能用第二次取样的样品所代替。另外, 从小型或组织检查、FFPE 切片或少量细胞中提取的 RNA 质量和数量都很低。RNA 的量成为了后续研究的瓶颈。

LightCycler RNA Pre-Amplification Kit 提供了一种高灵敏度、高保真的方法, 适用于 RNA 产量和质量都不高的样品。它利用 Ribo-SPIA 技术对总 RNA 进行线性、等温的扩增, 能保持原本 RNA 样品中每个转录本的相对丰度。只需要 4 个小时, 就能从 5-50 ng 总 RNA 中获得毫克级的高纯度稳定 cDNA。扩增得到的 cDNA 能直接用于 qPCR 研究, 任何定量 PCR 平台都可。

Ribo-SPIA 技术的原理如下图。它利用 SPIA DNA/RNA 嵌合引物、DNA 聚合酶和 RNase H 在等温条件下进行, 请看步骤 1、2、3。RNase H 用来降解新生成 cDNA 链 5'端 DNA/RNA 异源双链中的 RNA, 使 DNA 序列再次暴露, 第二次结合 SPIA DNA/RNA 嵌合引物。DNA 聚合酶随后起始引物向 3'端延伸, 取代原先存在的 cDNA 链。之后重复这个过程, RNase H 再次切割 RNA 部分, 让 cDNA 的合成重新进入下一个循环。就这样, SPIA DNA/RNA 引物结合、DNA 复制、链替换和 RNA 切割循环进行, 快速积累了大量的单链 cDNA, 而它们的序列都可以与原始的

RNA 互补。如果以 5ng 总 RNA 作为起始材料, RNA 平均扩增了 1500 倍。



该试剂盒的优势:

- ◆ 快速有效地制备 1500 倍扩增的 cDNA, 时间只需 4 小时。
- ◆ 通过独特的 Ribo-SPIA 等温、线性扩增方法将灵敏度和重复性最大化, 保持原有 RNA 样品中的相对丰度。
- ◆ 产生高质量的 cDNA, 能立即用于任何定量 PCR 系统。
- ◆ 步骤简单方便, 节省时间, 无需中间或最后的纯化步骤。

如果你了解这个试剂盒的更多信息, 请访问: <https://www.rocke-applied-science.com/ser/vlet/RCProductDisplay?storeId=10202&catalogId=10202&langId=-1&countryId=us&forCountryId=us&productId=3.5.8.1.2.2>。

(生物通 余亮)

Illumina 推出细胞遗传学研究用芯片

Illumina 最近为分子细胞遗传学家推出了一个新产品: Infinium High-Density HumanCytoSNP-12 DNA BeadChip。这个芯片包含了近 30 万个遗传标记,能靶定智力缺陷、自闭症和其他常见染色体畸形中相关通路的所有已知细胞遗传异常。HumanCytoSNP-12 BeadChip 是 Illumina 完整细胞遗传学解决方案的一部分。作为对它的补充, Illumina 同时推出了一款专门的细胞遗传学软件包,名为 KaryoStudio。

HumanCytoSNP-12 BeadChip 包含的标记是由 Illumina 的科学家手工挑选,能靶定细胞遗传学上的重要区域。由于采取 12 个样品的形式,研究者第一次能在一张芯片上拥有超过 360 万个遗传标记。通过利用 SNP 和非多态性探针, HumanCytoSNP-12 BeadChip 能鉴别缺失、重复、单亲二倍体 (UPD)。Prader-Willi 综合症和 Angelman 症就是由 UPD 引起的两种最知名的疾病。

“与 FISH、array-CGH 或其他染色体分型技术不同, HumanCytoSNP-12 BeadChip 能快速低成本地筛选与疾病相关的单核苷酸多态性,分析结构变异,并鉴定杂合子丢失事件,如单亲二倍体,它用目前的 array-CGH 产品根本检测不到。”Illumina 商业经营部的高级副总裁 Tristan Orpin 表示,“另外,我们还设计了 KaryoStudio 软件模块。这种新的软件满足了研究人员简单易用、自动化分析的需求。它能与细胞遗传数据库连接产生简单的报告,以及与已知表型交叉匹配的结果。HumanCytoSNP-12 BeadChip 与 KaryoStudio 软件的共同使用,让研究者有了一

套低成本、高通量的整合工具,来进行细胞遗传学异常的研究。”

关于 Illumina 的 HumanCytoSNP-12 BeadChip 和 KaryoStudio 软件包的更多信息,请访问 www.illumina.com/cyto。

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)

Millipore 推出全新的趋化因子受体定量试剂盒

Millipore 公司近日新推出 11 种趋化因子受体的定量试剂盒，适用于流式细胞仪。新试剂盒的全称为：FlowCelect Chemokine Receptor Surface Expression Quantification Kit。它们提供了快速、灵敏的测定，适用于不同的细胞类型。

趋化因子在许多胞内进程中扮演着关键性的角色。它们通过 7-TM 趋化因子受体的调节，参与了白细胞运输和激活。另外，它们还在免疫系统细胞中广泛表达，并成为多种自身免疫失调和 HIV 感染的重要指示剂。

流式细胞仪是研究趋化因子受体的有力工具。通过传递可靠、高内涵的信息，流式细胞仪比传统方法相比，在更少的时间内提供了高质量、可重复的数据。FlowCelect 试剂盒利用荧光检测，外加阳性和阴性对照细胞，避免了传统的放射性配体结合试验。

优势：

- ◆ 非放射性——你能够准确定量受体水平，而避免了放射性配体结合试验的危害。
- ◆ 快速简单——FlowCelect 试剂盒的检测流程简单，手工操作时间极少。
- ◆ 经过优化——试剂和操作步骤已经过优化，确保你每次都能得到最佳结果。
- ◆ 样品量少——Guava 专利的微毛细管流式细胞仪让你用更少的样品得到更多的数据。

根据 Millipore 高级产品经理 Jason Whalley 的说法，这些定量试剂盒开创了细胞生物学研究

的新标准。他表示：“对趋化因子受体表达的快速测定能应用于多个领域，包括对传染病和炎症的研究。此外，通过比较阳性和阴性细胞的信号，能定量表达水平。有了这个试剂盒，研究人员就再也不用进行危险的放射性配体结合试验了。”

这些 FlowCelect 试剂盒在 10 月 15 日上市，已经针对 Guava EasyCyte 流式细胞仪优化过。

在今年 3 月，Millipore 和 Guava 技术公司宣布了一项长期的合作协议，将为从事细胞生物学的科学家提供整合的流式细胞术解决方案。

关于 Millipore

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

(生物通 余亮)

看看谁更抵 年终大促盘点

又到了一年一度的年终大促时间，各大厂家为了冲任务，纷纷使出了绝招，降价、送礼、打包销售，花样不断。这个时候出手应该是最抵的了。同样的价格可以得到更多产品，还有各种各样的礼品。有些常用品，备多些也无所谓，反正迟早用得上。下面我们就来盘点一下哪些促销最值得买。

核酸纯化系列

PureYield 质粒小提试剂盒 (Promega) 买二送二 相当于 5 折

新型的 PureYield 质粒小提系统，只需 10 分钟即可纯化出转染级别的质粒 DNA。你在节约时间的同时，能够纯化出足以胜任克隆、转染、测序和其他实验的质粒 DNA。

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/080927/index.htm)

[Promega/080927/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/080927/index.htm)

截止时间: 2008 年 12 月 31 日

PCR & RT-PCR 系列

MMLV (Promega) 6 折

史上最受欢迎的反转录酶

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/081112/index.htm)

[Promega/081112/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/081112/index.htm)

截止时间: 2008 年 12 月 31 日

Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche) 7 折

- 提升准确性——保真度达到普通转录酶 7 倍
- 高灵敏度转录——起始转录模板 RNA 的量最少为 10 pg

- 全长 cDNA 产量高——使用锚定 oligo(dT)18 引物，可获取最长 14kb 的转录产物

- 快速获得结果——10 分钟内就可完成全长 cDNA

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/081117/index.htm)

[Roche/081117/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/081117/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 15 日

FastStart 系列热启动 PCR 酶 (Roche) 买二送一 相当于 67 折

罗氏 FastStart 热启动技术，对普通 Taq 酶采用化学修饰的方法，较之其他的抗体介导的热启动技术，该过程具有不可逆的特点，同时也不会对后继扩增的组分产生干扰，更能保证反应产物的特异性，同时也增加 PCR 的灵敏度和保真度；只需要在循环开始前 95℃ 加温 2-4 分钟就可激活酶活性。

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/081117/index.htm)

[Roche/081117/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/081117/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 31 日

定量 PCR 系列

Absolute QPCR Master Mixes (ABgene, Thermo 旗下) 买二送一 相当于 67 折

满 2200 元再赠送价值 100 元卓越礼品卡一张，额外还能买好几本书呢。

1. 含独特添加剂，可获得稳定的终点读数和低的 Ct 值。

2. Mix 系统中所用的聚合酶是 Thermo

Scientific 的专利产品---Thermo-Start Taq DNA 聚合酶, 较其他热启动酶, 该酶扩增效率更好, 特异性更高。

3. 含 dTTP, 大大提高了反应的扩增效率和灵敏度。

4. 针对不同公司不同型号的定量 PCR 仪, 量身打造一系列独特产品, 保证扩增效率达到最佳

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/ThermoFisher/081117/index.htm)

[ThermoFisher/081117/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/ThermoFisher/081117/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 31 日

Power SYBR® Green PCR Master Mix (ABI) 约 75 折

这个就不用多说了吧, 定量 PCR 的金标准

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/ABI/080916/index.htm)

[ABI/080916/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/ABI/080916/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 31 日

克隆系列

限制性内切酶 (Promega) 全线 5 折

最早在中国销售的限制性内切酶。20 年历久弥新.....

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/081112/index.htm)

[Promega/081112/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Promega/081112/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 31 日

抗体系列

12000 多种抗体 (Sigma) 全线 75 折

Sigma 为您提供最优质的抗体, 每一个抗体都经得起严格的应用检验。我们的每个抗体都有相关可重复的实验数据支持, 包括网上的实验数据表和

质控证书。

■ 品种丰富—12,000 多种抗体, 每天都有高质量的新抗体投放市场

■ 质量可"考"—WB,IHC,IF,IP,ELISA..... 应用范围一目了然

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Sigma/081113/index.htm)

[Sigma/081113/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Sigma/081113/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 31 日

细胞凋亡、增殖检测系列

TUNEL 、 Annexin V 、 Cytotoxicity Detection Kit..... (Roche) 全线 7 折 满 5000 元还加送 timer

罗氏细胞检测系列产品自问世以来, 历经时间的考验, 以其卓越的品质获得了广大业界用户的支持和认可, 相关文献达数千。罗氏细胞及凋亡及增殖产品:

• 检测范围广泛: 可实现对细胞培养液, 组织切片, 单个细胞及细胞群落的分析检测, 及日益增长的高通量检测需求。

• 检测方法灵活: 针对光学或荧光显微镜、流式细胞仪、ELISA。

• 操作安全: 无需接触任何的放射性同位素, 简便易用。

• 产品线丰富: 针对不同的细胞凋亡通路、细胞毒性和细胞增殖检测目的, 有多种产品可供挑选。

链接地址: [http://www.ebiotrade.com/custom/](http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/081117/index.htm)

[Roche/081117/index.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/081117/index.htm)

截止日期: 2008 年 12 月 15 日

生物通整理。更多特价信息请看特价专栏。

Broad 研究院再添 5 台 SOLiD 系统

ABI 公司近日宣布麻省理工学院和哈佛大学 Broad 研究院又购进了 5 台新的 SOLiD 系统。这些仪器将用于癌症和其他人类疾病的遗传学研究。

尖端测序技术的开发为生命科学研究打开了另一扇大门，使研究人员能完整地纵览个体的全部癌症基因组。Broad 研究院的科学家们正致力于创建单碱基变化（SNP）和基因组中大片段 DNA 重排（结构变异）的目录。利用 SOLiD 系统，研究小组希望将与不同癌症相关的基因组变化分类，以便更好地了解癌症的发病原因，从而改善癌症的治疗手段。

有了这 5 台新仪器，Broad 研究院的 SOLiD 系统数量增加至 8 台。

利用现有的 SOLiD 系统，Broad 的研究人员每一轮测序能得到 134 亿个碱基，超过整个人类基因组碱基数的 4 倍。根据 ABI 的数据，全新的 SOLiD 3 系统每一轮能产生 200 亿个可作图的序列数据，而在 ABI 的研发部门，这个数字更超过 250 亿。

Broad 研究院基因组测序和分析项目的主管 Chad Nusbaum 认为：“自一年前 SOLiD 系

统上市以来，它的技术规模已显著扩大。”他表示 Broad 的研究人员将在癌症基因组计划中进一步测试 SOLiD 的准确率和通量。

SOLiD 系统为复杂的基因组和疾病研究提供了两大关键优势。首先，配对末端分析让科学家能检测与疾病相关的多种形式的结构变异。配对末端分析为读长的方向以及配对末端的距离提供了详细的信息。SOLiD 系统能从一系列 DNA 插入大小中产生几百万个可作图的配对末端序列，来检测最多的结构变异，并精确界定某个重排的断点。其次是 SOLiD 系统每块玻片上超高的磁珠密度。结合巨大数量的标签和大的配对末端文库，研究人员能在每次运行后得到更高的基因组覆盖度。

SOLiD 3 系统可以从现有的平台进行升级或作为一台独立的仪器，预计将在明年初全面上市。

（生物通 余亮）

ABI 灵敏度最高的液相色谱质谱联用仪 被 Cypotex 率先引进

据美通社英国报道，Cypotex 欣然宣布为其工厂引进业内灵敏度最高的离子阱和三重四极杆仪器。

QTRAP(R) 5500 液相色谱质谱联用仪 (LC-MS/MS) 通过将全球最具灵敏度的三重四极杆仪器和全球灵敏度最高、筛选速度最快的线性离子阱相结合，从而具备了无与伦比的灵敏度和令人印象深刻的速度，并在保证不影响任一功能特性的同时还拥有非凡的定量和定性分析能力，同时还能在宽动态范围内进行精确的离子检测。

引进 QTRAP(R) 5500 是 Cypotex 生物分析工厂的拓展内容之一，这使其能够提供一种综合性的生物分析法开发和鉴定服务，以及一种功能增强、灵敏度高的代谢谱分析和鉴定服务。该仪器将会提高发现传统液相色谱质谱联用系统无法解决的灵敏度较差的分子的可能性。

Cypotex 首席执行官 Anthony Baxter 博

士就购买新的 QTRAP(R) 5500 液相色谱质谱联用仪发表评论时表示：“Cypotex 将能够提供一种卓越的生物分析服务，从而使我们能够从众多竞争者中脱颖而出。这项先进的技术提供了高灵敏度的准确分析，为我们成功检测并量化客户的分子创造了最佳机遇。”

美国应用生物系统公司 (Applied Biosystems) 英国和爱尔兰地区商业负责人 Ian Clarke 对此发表评论表示：“QTRAP(R) 5500 液相色谱质谱联用仪最近刚刚上市，而 Cypotex 是英国最先从这个新一代技术中获益的公司。这些优势加上他们的工厂将会大大提升其生物分析服务水平，并使其客户能够获得业内灵敏度最高的离子阱液相色谱质谱联用仪。”

赛默飞世尔科技收购 Raymond A. Lamb 公司

来自美国马萨诸塞的消息，全球科学服务领域的领导者--赛默飞世尔科技，今天宣布已收购了 Raymond A. Lamb Ltd.。该公司注册地为英国伊斯特本(伦敦附近)，是组织学和解剖病理学产品的制造商。

Raymond A. Lamb 注册于 1964 年，已发展成为病理学实验室产品的全球供应商。最近，该公司研究出能够自动标记和跟踪携带患者组织标本的切片和包埋盒技术，从而降低在处理、储存和检索过程中产生误差的可能性。该公司与 Thermo Fisher 在解剖病理学业务上有着长期的合作关系，向赛默飞世尔提供包埋盒和玻璃切片的标签产品，以及其它解剖病理学设备。

赛默飞世尔科技的总裁兼首席执行官 Marijn E. Dekkers 表示：“无论在临床还是实验室研究方面，我们的客户都要求我们提供更好的解决方案，来追踪他们需要处理和诊断的大量标本。此次收购带来了可以整合入我们现存的解剖病理学设备和消费品组合的新一代系统，从而创建更高效，可靠的工作流程。”

2007 年，Raymond A. Lamb 的收入大约为九百万美元。收购后，将整合入赛默飞世尔的分析技术部门。

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)。