

EBIOTECH

生物通技术周刊

第53期

2008年12月25日

全文下载

[技术前沿]

泛素融合蛋白表达系统——真核表达的新工具

自动化筛选最高表达量的细胞

[2008十大创新产品评选之入围产品]

NimbleGen序列捕获芯片

GS FLX 系统升级 展现全新面貌

EL406 高通量自动洗板分液系统

[2008《科学》十大突破]

08《科学》十大突破最高奖：细胞程序重排技术

2008十大突破：基因组测序多快好省

2008十大突破：首个脊椎动物的发育蓝图

Science十大科学突破之蛋白质篇

[新品速递]

BD推出干细胞分选试剂盒

[行业动态]

流式细胞仪奖励计划，人人有机会

生命科技公司将利用人胚胎干细胞构建疾病模型

GE Healthcare In Cell图像竞赛投票

海南之夜推出神秘圣诞大礼 赛默飞世尔科技质谱新品发布

泛素融合蛋白表达系统——真核表达的 新工具

为了研究哺乳动物蛋白的生理功能，我们常常利用哺乳动物的细胞系来表达它们，但是构建稳定表达的细胞系却是一件费时费力的事。最近，德国康斯坦茨大学的研究人员利用 N 端结合泛素的目的蛋白能被泛素特异的蛋白酶（USP）切割的特性，开发出新的表达系统，能轻松、高效地筛选出表达目的蛋白的哺乳动物细胞。

蛋白表达一般通过转染表达载体来实现，载体上的表达盒由组成型或诱导型的启动子来控制。表达策略有两种：瞬时转染和稳定表达。瞬时转染能实现目的蛋白的短期表达。与之相对，用抗生素进行筛选是稳定表达的前提条件。在稳定的细胞系中，表达载体的一个或多个拷贝整合进入基因组，能长期稳定表达转基因，不过这个基因不能是细胞毒性的。在大部分表达系统中，抗性基因和目的蛋白是通过不同的启动子控制的。这样，就存在一个缺点，只有一部分筛选出的细胞表达目的蛋白，尤其当蛋白是细胞毒性的。于是，我们不得不同时进行细胞筛选和蛋白表达分析，尽管它非常费力。

为了解决这个问题，表达载体有了一些修改，增加了核糖体内部结合位点（IRES）元件。这样，目的蛋白和抗性基因就能从同一个转录本中表达。有抗性的细胞也会表达目的蛋白。不过，因为它们不是单独翻译，所以两种蛋白的表达速率不同，有可能差异很大。例如目的蛋白的翻译起始速率可能会显著低于 IRES 介导的抗性基因的翻译起始速率。

20 多年前，Varshavsky 及同事发现将泛素融合到另一蛋白的 N 端，会导致泛素特异蛋白酶的有效切割，释放出泛素和目的蛋白。德国康斯坦茨大学的 Scheffner 就利用了泛素融合蛋白的方法，设计出一种真核表达载体。他在嘌呤霉素 N-乙酰转移酶（puror）上加了血细胞凝集素表位（HA）标签，并融合到泛素的 N 端（HA-puror-ubi），再整个融合到目的蛋白的 N 端。这种表达载体的优势是对嘌呤霉素有抗性的细胞一定能表达目的蛋白，而且它们的比例是 1: 1，另外，USP 的切割

会产生无标签的目的蛋白。

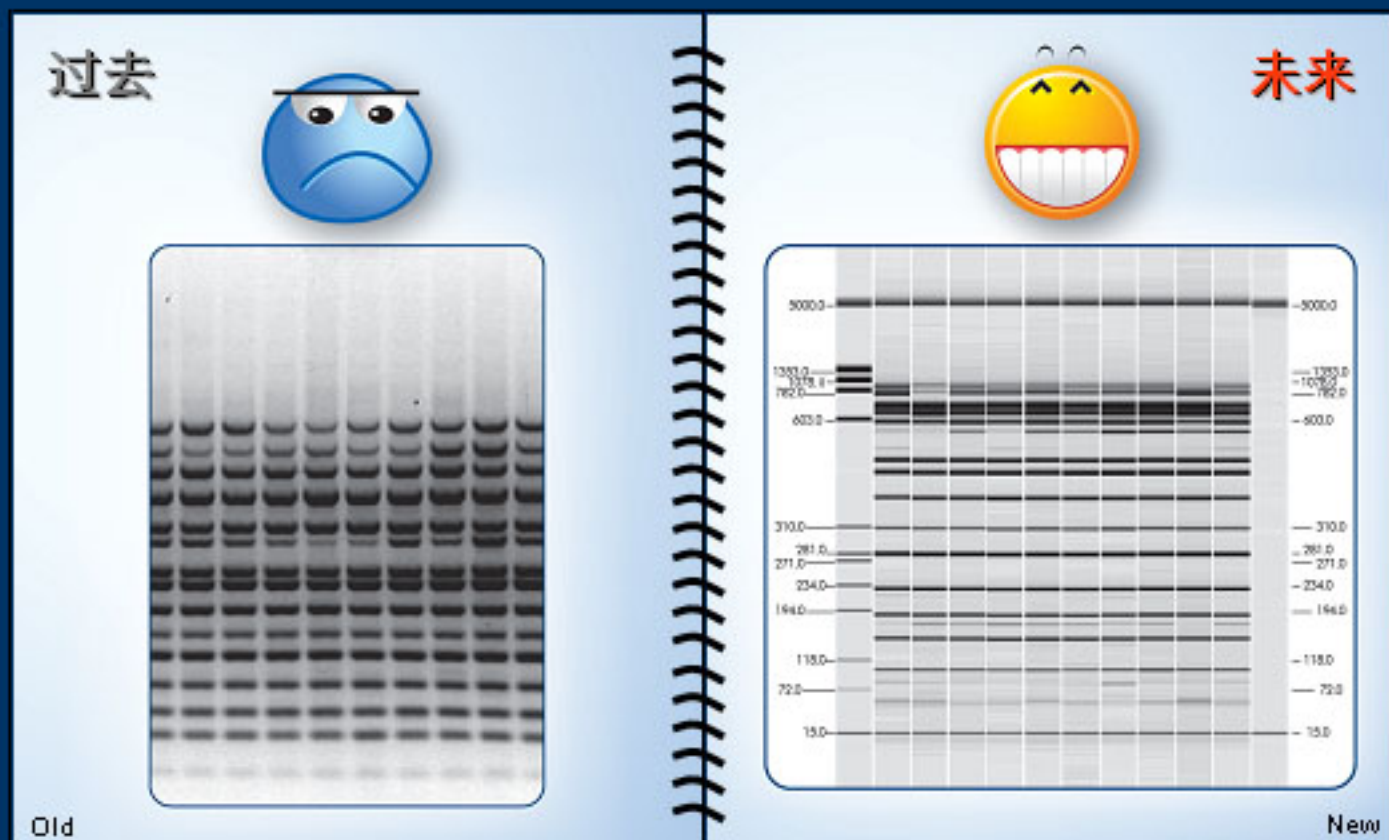
为了验证这种方法的可行性，他们利用 HA-puror-ubi 表达载体表达了两种蛋白：Flag 标记的 EGFP 和 E6AP（一种泛素连接酶）。然后，他们验证了这些融合蛋白在体外和细胞内是否能有效加工，是否具有功能。

他们将重组的表达载体分别用体外表达系统（兔网织红细胞裂解液）和不同的细胞系（H1299、RKO、MCF-7 和 HeLa）进行表达，并用 western blot 进行分析，最终都检测到了 HA-puror-ubi、Flag-EGFP 和 Flag-E6AP，加工效率接近 100%。为了说明加工后的 HA-puror-ubi 蛋白是否让细胞具有嘌呤霉素的抗性，他们将重组的表达载体转染细胞，并用递增量的嘌呤霉素筛选 48 小时。结果表明 HA-puror-ubi 至少是部分活性的，转染后的细胞能耐受高浓度的嘌呤霉素（8-12 ug/ml；通常 1 ug/ml 已足够杀死未转染的 H1299 细胞）。有趣的是，EGFP 和 E6AP 的表达水平也随嘌呤霉素递增，说明通过改变选择压力，能调节系统中目的蛋白的表达量。

与传统的表达系统相比，HA-puror-ubi 表达系统表现出三大优势。一、所有筛选出的细胞表达目的蛋白；二、目的蛋白的最终表达水平可由选择压力如抗生素的浓度来控制；三、无需构建单克隆。另外，与 IRES 表达载体相比，目的蛋白的表达水平提高了 5-10 倍。

（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>>

自动化筛选最高表达量的细胞

对于表达蛋白和抗体的研究人员而言，最梦寐以求的事莫过于筛选到一株高表达的细胞。可是我们这等凡人却没有这样的慧眼，能一眼挑出最具经济价值的细胞。通常是花了几个月的时间，筋疲力尽，效果也未必满意。有没有一些工具让我们从繁重的体力劳动中解脱出来呢？答案当然是肯定的。

也许你还不知道，世界上首个哺乳动物细胞筛选仪早在 2003 年就已经诞生了。它的东家是英国的 Genetix 公司。没听过它的大名不要紧，我给你介绍一下它的威水史。Genetix 是第一家商业化 384 孔板的公司，如今他家的 384 孔板已经成为行业标准。Genetix 还为人类基因组计划立下汗马功劳，当时多个主要实验室都采用了他家的高通量菌落挑选系统。Genetix 是第一家也是世界上最好的生产全自动细胞株筛选仪器的厂家。赫赫有名的大药厂，如葛兰素史克，诺华，罗氏，诺和诺德以及中国的药明康德都采用了他家的 ClonePix FL 系统，来快速筛选哺乳动物克隆。

ClonePix FL 是迄今唯一能快速筛选哺乳动物细胞克隆的全自动化系统。它彻底变革了细胞筛选过程，能够从上千个克隆中自动挑选蛋白表达量或抗体分泌量最高的细胞克隆，时间只需 26 天，手工时间只需要 8 小时。而传统的有限稀释分析需要 2 个月才能完成。ClonePix FL 不仅加快了研究进程，还大幅节约了研究经费。挑选出来的细胞株不仅高产，且生产稳定，经济价值潜力无限。

你一定很好奇它的原理是什么，听我慢慢道来。ClonePix FL 的秘密武器就在于半固体的培养基 CloneMedia 和特异的荧光检测试剂 CloneDetect。细胞接种在含半固体培养基的 6 孔板上，培养 4-10 天。为什么用半固体培养基

呢？因为它能将细胞固定，让它们生长并自由分裂形成不连续的克隆。另外，它还像孙悟空在地上画的圈一样，能将分泌的蛋白局限在分泌克隆的周围。培养基中荧光标记的检测试剂 CloneDetect 则能够检测到分泌在培养基中的蛋白或抗体。如果你的蛋白不分泌，那也没关系，只要在上面加个荧光标签如 GFP，在细胞内就能直接观察到。

ClonePix FL 强大的成像和软件分析能力能平行比较数千个哺乳动物细胞的蛋白分泌量。系统捕捉一系列高分辨率的白光和荧光图像，绘制出所有克隆及其分泌水平的二维图像。随后，软件会确定最高产的菌落，并挑选出来，以备二次筛选。

自动筛选哺乳动物细胞的流程：

将细胞铺在含半固体培养基的 8×6 孔板上。12 天后，ClonePix FL 筛选约 4000 个克隆，从中挑选出表达量最高的 2-5% 的克隆，培养 1 星期。这时你有两个选择，一是将这些克隆再接种到半固体培养基中，用 ClonePix FL 进行稳定性筛选；二是转移到 24 孔板中，扩大培养以备二次筛选。

ClonePix FL 的应用领域非常广泛，从挑选杂交瘤、干细胞，到筛选高表达细胞、病毒斑，它样样拿手。以下是它的应用范例：

一）挑选表达针对特定抗原抗体的杂交瘤

- 1、ClonePix FL 自动筛选和挑取杂交瘤；
- 2、只挑取分泌抗原特异性 IgG 的克隆；
- 3、不再需要后续的大量 ELISA 筛选工作；
- 4、适用的抗原范围广，从 160kD 多聚体蛋白到 2.6kD 磷酸肽；
- 5、所需要的时间短: 7-10 days to isolate HAT-selected clones of 100-500 cells。

二) 根据产量筛选高表达单克隆抗体的细胞株

- 1、ClonePix FL 自动挑取表达量高的“高价值”细胞株
- 2、不再需要复杂的检测和亚克隆步骤
- 3、无血清和有血清培养系统都适用
- 4、需要的时间短: 10-14 days to isolate cells for expansion

三) 挑选小鼠干细胞

- 1、ClonePix FL 自动筛选和收集小鼠胚胎干细胞 (mES)

2、mES 细胞在半固体培养基中培养，防止细胞分化和方便挑取

3、ClonePix FL 能够发现和选择未分化的克隆

四) 筛选生产稳定的细胞株

五) 筛选分泌重组蛋白的高表达细胞克隆

六) 根据细胞表面标志表达筛选克隆

七) 根据细胞内报告基因的表达筛选克隆 (e.g. GFP)

八) 杆状病毒蛋白表达系统，自动挑取琼脂糖培养基上形成的病毒斑。

如需 ClonePix FL 的详细资料，请联系基因有限公司 (021-64951899-229 或 matthew_wxb@genecompany.com)。

(生物通 余亮)

NimbleGen 序列捕获芯片

新一代测序技术之所以迷人，是因为它一次运行几天就完成了我们若干人若干年才能完成的任务。不过在其风光的外表之下，也有着不为人知的艰辛。运行费用太高，这让众多想吃螃蟹的研究人员只能望而兴叹。连最知名的 Sanger 研究院都有些吃不消，更何况一般的研究员。我们以前处理中最简单的 PCR 来举例说明一下。

如果你想对 1000 个基因（约 7000 个外显子）进行测序，那么你首先要设计并合成 14000 条 PCR 引物，扩增出目的片断。以每条引物 10 元的最优惠价格计算，这部分的费用大约是 14 万（注：本文列出的价格均为人民币）。另外，7000 个 PCR 反应的费用姑且算作 3.5 万元。那么，仅仅是 PCR 这部分，费用就蹭地升到了 18 万左右。这还只是试剂的费用，人工呢？设计 7000 对引物，这不是一般的工作量，每天设计 100 对，天天无休，也得两个月啊。还有痛苦的 PCR 过程，不出差错都要偷笑了。难怪有些机构买了新一代测序仪，却迟迟不敢开动。

看了这段话，估计有些跃跃欲试的研究者开始泄气了。不过，科技的魅力就在于其不断创新，生命科学尤其如此。这不，罗氏公司属下 NimbleGen 公司就推出了全新的解决方案。只需 1 块 NimbleGen 革命性的序列捕获芯片，就能靶定上面 7000 个外显子，一步完成富集步骤，极大地节省了费用、人力和时间。

NimbleGen 序列捕获芯片可是天字第一号，专门用于解决测序时样品制备的瓶颈。这种芯片可以量身定制，能捕获连续或分散的基因组区域，灵活性非常高。

NimbleGen 序列捕获芯片的原理与一般的芯片类似，不过据罗氏的专家介绍，探针的长度会稍长一些。至于探针的具体信息，那就是

NimbleGen 的专利了，外人不得而知。捕获过程也很简单：基因组 DNA 被打断，然后与定制的序列捕获芯片杂交，没有杂交上的片断被洗掉。富集的目标群体随后被洗脱并扩增，就能用 GS FLX 进行高通量测序了。

NimbleGen 序列捕获芯片的优势：

定向捕获基因组目标区 目前一块芯片最长可捕获 5 MB 的指定基因组区域，特异性和覆盖度都很高。

数据可靠 芯片上包含了对照探针，用于验证系统的性能。基于已知、独特的基因座，这些目标区域提供了对照基因座富集水平的定量测定方法。

你说，我捕获 每个人感兴趣的区域都不一样，只要你选择出想要捕获的区域，Roche NimbleGen 就会设计并合成一块定制的序列捕获芯片。捕获区域可以是连续或非连续的基因组长片段、全外显组或其他任何区域。

省钱、省时又省事 有了这块芯片，什么引物设计、PCR，都抛到脑后吧，一次就得到了可直接用于测序的所有目标区域。与 PCR 方法相比真是省钱、省时又省事。

至于它的表现如何，我们让 paper 来说话。贝勒医学院是它的早期用户之一。Albert 等人研究表明，序列捕获方法较之于以前的 PCR 方法

是一种更简单、更精准、更高效、更经济的方法。通过一次实验,超过 6,700 个外显子可以被同时富集并分析,相当于达到 5 百万个碱基对的连续基因组区域。如果利用以前的方法,则可能需要耗费至少 6 个月的时间 1。Okou 等在 1.7 Mb 的区域中捕获>300 kb 的编码区域。随后重测序的碱基检出率为 99.1%, 准确率为 99.81%²。Hodges 等用 7 块芯片总共捕获了 204,490 个外显子,基因组编码区域和邻近剪接位点的长度达 44 Mb。捕获的片断在测序中产生了 109 Mb 的序列读长。目标外显子的平均富集度为 237 倍,超过 50%产生了序列数据 3。

序列捕获芯片能应用在外显子区域、大的基因座和候选基因群重测序上。许多疾病如癌症、心血管疾病、代谢失调等都涉及多个基因。选择性地富集基因组编码区域有助于我们了解复杂的遗传疾病。大的基因座的测序是发现和分析 SNP 及其分布的好方法。未来还可能应用在对重要的植物基因组分析上,例如分析数量性状位点。选择性富集也是对大规模基因群测序时的必经之路,如毒性研究、代谢信号基因群和 ADME 药物基因组学分析。

在了解了它的性能后,你一定更关心它的价

格。如果你现在定制,那真是赶上好时机了。现在罗氏携手国家人类基因组南方研究中心推出“珠联璧合,倾情回馈”的特价活动。如果你只需序列捕获的服务,目前芯片的优惠价为 24750 元,而设计的费用为 8250 元。只需 3 万多块,就轻松完成了以前十几万才能完成的工作。再加上后面的 454 测序服务也只需 13 万元。你提供 21ug 的基因组 DNA,并标明想要捕获的区域就 OK 了,交付给你的是最终的测序结果。最短的时间,最小的投入,实现发顶级杂志的梦想。

1. Albert TJ, et al. “Direct selection of human genomic loci by microarray hybridization,” *Nature Methods* 2007 Nov; 4(11):903-5.

2. Okou DT, et al. “Microarray-based genomic selection for high-throughput resequencing,” *Nature Methods* 2007 Nov; 4(11):907-9.

3. Hodges E, et al. “Genome-wide in situ exon capture for selective resequencing,” *Nature Genetics* 2007 Dec; 39(12):1522-7.

(生物通 余亮)

GS FLX 系统升级 展现全新面貌

454 公司可谓新一代测序技术的奠基人。2005 年底，454 公司推出了革命性的基于焦磷酸测序法的超高通量基因组测序系统——Genome Sequencer 20 System，被《Nature》杂志以里程碑事件报道，开创了边合成边测序（sequencing-by-synthesis）的先河。之后，454 公司被罗氏诊断公司以 1.55 亿美元收购。在已有 GS 20 的技术基础上，罗氏和 454 公司不断加大创新投入，又于 2007 年推出了性能更优的第二代基因组测序系统——Genome Sequencer FLX System (GS FLX)。今年 10 月，454 推出了全新的 GS FLX Titanium 系列试剂和软件，让 GS FLX 的通量一下子提高了 5 倍，准确性、读长也进一步提升。

GS FLX 系统的测序原理

让我们先来了解一下 GS FLX 系统的测序原理。它是一种依靠生物发光进行 DNA 序列分析的新技术：在 DNA 聚合酶，ATP 硫酸化酶，荧光素酶和双磷酸酶的协同作用下，将引物上每一个 dNTP 的聚合与一次荧光信号释放偶联起来。通过检测荧光信号释放的有无和强度，就可以达到实时测定 DNA 序列的目的。此技术不需要荧光标记的引物或核酸探针，也不需要电泳；具有分析结果快速、准确、高灵敏度和高自动化的特点。

GS FLX 在进行测序时，使用了一种叫做“PicoTiterPlate”（PTP）的平板。它含有 160 多万个由光纤组成的孔，孔中载有化学发光反应所需的各种酶和底物。

测序开始时，放置在四个单独的试剂瓶里的四种碱基，依照 T、A、C、G 的顺序依次循环进入 PTP 板，每次只进入一个碱基。如果发生碱基配对，就会释放一个焦磷酸。这个焦磷酸在各种酶的作用下，经过一个合成反应和一个化学发光反应，最终将荧光素氧化成氧化荧光素，同时释放出光信号。此反应释放出的光信号实时被仪器配置的高灵敏度 CCD 捕获到。有一个碱基和测序模板进行配对，就会捕获到一分子的光信号；由此一一对应，

就可以准确、快速地确定待测模板的碱基序列。

新升级让性能全面提升

新发布的 Titanium 系列试剂，是对现有 GS FLX 平台的重要升级。升级内容包含耗材、试剂和软件。你无需对仪器的硬件做任何昂贵的升级，只改进试剂和软件，就能立刻实现性能提升。升级之后，每轮测序能产生 100 万个读长片断，高质量（Q20）的读长增加至 400 bp。第 400 个碱基的准确率是 99%，之前的更高。通量也提高了 5 倍，目前每轮运行能获得 4-6 亿个碱基对，所需时间为 10 小时。

★ PTP 平板的创新重设计 重新设计之后，PTP 平板上孔的密度更高，利用更小的 DNA 捕获磁珠进行金属覆盖，改善了信号质量，因此读长的数量和长度都明显改善，同时准确性更高。目前孔的直径是 29 μm ，DNA 捕获磁珠的大小是 20 μm 。

★ 改进的测序试剂 改进的 GS FLX Titanium 试剂显著降低了背景噪音，因此在几乎相同的运行时间内，读长更加长。

★ 升级的软件 优化用于超高通量测序的软件，能轻松对更大、更复杂的基因组进行拼接和作图。

★ **GS FLX 2.0 版** 它与以前版本的输出数据也完全兼容，让片断能够共同拼接和作图。

GS FLX 系统的工作流程

GS FLX 系统提供了从样品制备到后续的生物信息学分析的完整解决方案。概括起来，就是“一个片断=“一个磁珠” fragment = One bead = One read)

1) 样品输入并片断化：GS FLX 系统支持各种不同来源的样品，包括基因组 DNA, PCR 产物, BAC, cDNA, 小分子 RNA 等等。大的样品例如基因组 DNA 或者 BAC 等被打断成 300—800 bp 的片段；对于小分子的非编码 RNA 或者 PCR 扩增产物，这一步则不需要。短的 PCR 产物则可以直接跳到步骤 3)。

2) 文库制备：借助一系列标准的分子生物学技术，将 A 和 B 接头 (3'和 5'端具有特异性) 连接到 DNA 片段上。接头也将在用于后续的纯化，扩增和测序步骤。具有 A、B 接头的单链 DNA 片段组成了样品文库。

3) 一个 DNA 片断=一个磁珠：单链 DNA 文库被固定在特别设计的 DNA 捕获磁珠上。每一个磁珠携带了一个独特的单链 DNA 片断。磁珠结合的文库被扩增试剂乳化，形成油包水的混合物，这样就形成了只包含一个磁珠和一个独特片断的微反应器。

4) 乳液 PCR 扩增：每个独特的片断在自己的微反应器里进行独立的扩增，而没有其他的竞争性或者污染性序列的影响。整个片段文库的扩增平行进行。对于每一个片断而言，扩增后产生了几百万个相同的拷贝。随后，乳液混合物被打破，扩增的片断仍然结合在磁珠上。

5) 一个磁珠=一条读长：携带 DNA 的捕获磁珠随后放入 PTP 板中进行后继的测序。PTP 孔

的直径 (29um) 只能容纳一个磁珠 (20um)。然后将 PTP 板放置在 GS FLX 中，测序开始。每一个与模板链互补的核苷酸的添加都会产生化学发光的信号，并被 CCD 照相机所捕获。

6) 数据分析：GS FLX 系统在 10 小时的运行当中可获得 100 多万个读长，读取超过 4-6 亿个碱基信息。GS FLX 系统提供两种不同的生物信息学工具对测序数据进行分析，适用于不同的应用：达 400 MB 的从头拼接和任何大小基因组的重测序。

GS FLX 系统广阔的应用天地

作为唯一能够实现序列读长超过 400 bp 的新一代测序技术，GS FLX 系统可实现包括全部外显子和其他基因组区域的单体型分析在内的综合分析。该系统高度精确、超长序列读长促使一系列强大应用成为可能，新的样本制备工具进一步简化了这些工作。其中包括检测癌症样品中低频率体细胞突变的超深度测序，HIV 感染个体的稀有变异探索，疾病相关区域外显子序列分析，通过全基因组联合分析和对 16S 核糖体 RNA 区域的鉴定来描绘出宏基因组样品中的微生物丰度和多样性。

454 测序系统除了为多项研究领域开辟了基因组分析之路，同时也加速了探索的步伐。一般来说，研究、分析、撰写并提交论文，经同行评议后发表，需要一年左右的时间。而利用 Genome Sequencer 系统发表论文的速度，显然表明 454 测序结果的数据质量高，且分析简单。超长读长与易用的分析工具相结合，让研究人员能更集中精力于科学研究，而不是研究过程中的某个技术细节。这样研究项目能快速完成，接着踏上新的研究道路。

在新一代测序技术中，GS 系统是最多产的。截至 2008 年 9 月，已经发表了 250 多篇高质量的 paper。其中 Nature 20 篇、Science 13 篇、Cell 6 篇、Genome Research 20 篇、PNAS 24 篇。光

是这些数据就让人咂舌。这些研究跨越了测序应用的多个方面：82 篇全基因组测序论文包括比较基因组学的从头测序和重测序；54 篇小分子 RNA 研究；37 篇聚焦快速兴起的宏基因组学；27 篇关于转录组图谱分析，包括全转录组拼接和表达图谱；13 篇研究染色体结构和表观遗传学；10 篇有关稀有变异检测的超深度测序这个新领域；11 篇研究古老 RNA。其余的文章关注 454 测序系统的技术和生物信息学。多种多样的应用彰显出 454 测序系统的能力，那些传统意义上无法用测序来解决的问题现在也一并解决了。

上个月，美国加利福尼亚大学的研究小组利用全新的 GS FLX Titanium 系列试剂对海洋样品的宏基因组进行测序，发现了一种全新的蓝藻物种，文章发表在 11 月 14 日的《Science》杂志上。这项研究是系统升级后发表的首篇文章。首席研究员 Jonathan Zehr 对于获得数据及分析结果的速度非常震惊。他表示：“多年来我们一直试图培养这种微生物，但都没有成功。有了 GS FLX Titanium，我们在几天之内就通过单次测序运行，从环境样品直接获得了宝贵的基因组信息。这个系统超长的读长对于我们从复杂的微生物群体中鉴定并分析这种独特的细菌基因组来说非常关键。”

北美多个主要的基因组中心立即进行采购也是仪器性能提升的最好佐证。贝勒医学院成为第一个安装了 10 台 GS FLX 仪器的机构，圣路易斯的华盛顿大学也立刻增加至 8 台。麻省理工大学和哈佛大学 Broad 研究院目前的仪器数量也是 10 台。贝勒医学院人类基因组测序中心的主管 Richard Gibbs 教授表示：“我们很荣幸能第一个使用 GS FLX Titanium 试剂，也非常满意。新试剂的性能与 454 承诺的一样好。新的试剂有效取代了 Sanger 测序，因此我们正将其应用到我们中心 10 台 GS FLX 仪器上。”

贝勒医学院人类基因组测序中心的助理教授 Stephen Richards 博士表示，“利用 454 生命科学独特的 3K 和 20K 配对末端读序法，我们的 N50 contig 长度达到 30-50 kb，N50 scaffold 的大小也超过 3 Mb，基因组的序列覆盖度为 12 倍。与对照的果蝇基因组相比，这个结果说明 GS FLX Titanium 系列读长至少相当于 Sanger 读长的 8 倍，而速度却快得多，费用也少了一个数量级。”

麻省理工大学和哈佛大学联合 Broad 研究院测序部门的主管 Rob Nicol 博士表示：“长达 400bp 的序列读长和更高的测序读长密度，新 Titanium 系列的改进有助于开发更高效、更高通量的工作流程，以应用于大规模测序工作中——例如人类微生物组计划（HMP）中的微生物全基因组测序。GS FLX Titanium 系列的高效步骤让我们简化了工作流程，大大缩短了从样品到数据再到结果的时间。”

你也能实现新一代测序的梦想

当然，不是每个单位都能像贝勒医学院一样大手笔，购买 10 台 GS FLX 测序仪。可能光是开机运行的费用都已经让我们大呼吃不消。不过，你依然有机会实现新一代测序的梦想。最近，罗氏应用科学部携手国家人类基因组南方研究中心推出“珠联璧合，倾情回馈”的特价活动。你只需提供 21 ug 基因组 DNA 样品，并标明想要捕获的区域，他们将负责用 NimbleGen 的芯片捕获富集 DNA，并用 GS FLX 进行高通量测序，最终你得到的是测序结果。费用也只是 13 万元，比自己测都便宜多了，而且多轻松啊，连引物设计都省了，只要分析分析，就能发很好的 paper 了。活动只进行到 12 月 31 日，想要测序的同学可千万不要错过了，说不定下一个发顶级杂志的就是你哦。

（生物通 余亮）

EL406 高通量自动洗板分液系统

BioTek 公司最新的 EL406 高通量自动洗板分液系统的出现, 极大地提高了实验者的实验速度和效率。这款仪器操作简单并且功能强大, 独创性的整合了作为行业标准 ELx405 Select CW 洗板机, 一个蠕动泵分液模块以及两个高精度注射器泵分液模块, 进一步巩固了其在微孔板清洗领域的领先地位。有了这样一台洗涤和分液相结合的紧凑装置, 使用者能节省工作台的空间, 以及多个专用仪器的费用。它对于自动化系统特别有用, 因为许多机械的微孔板移动步骤都可以省略了。

洗板模块采用了 BioTek 专利的 Dual-Action 技术, 可适用各种制式的微孔板, 并且可进行多种流速调整以适应细胞清洗的操作需求。此外, EL406 还配备了 BioTek 独一无二的超声清洗功能, 使得仪器的维护更加便利。同时它还具有多达 4 种洗液的自动切换功能可以完成更为复杂的洗板工作。

EL406 的蠕动泵分液模块采用了独特的设计, 可以在 1 μ l-3ml 的分液范围内实现高精度和高准确度的分液。有三种可高压灭菌的分液卡夹 (1 μ l, 5 μ l, 10 μ l) 可供选择, 以更好的适应不同体积的分液要求。另外整合 2 个注射器泵分液模块可以同时完成多达 3 种试剂的分液操作。所有的功能都可以通过 Liquid Handling Control PC 软件控制。选配 BioStack 微孔板储板器可使整个实验步骤自动化。

最近, BioTek 还推出了适用于 1536 孔板的 EL406 新型号, 能快速有效清洗 1536 孔微孔板。之前, 它只适用于 96 孔和 384 孔板。

系统特点:

- § 快速, 整板洗板
- § 可完成多达 3 种试剂的分液操作(可根据实验需要选择蠕动泵或注射器泵进行分液)
- § 适用 96 孔、384 孔板和 1536 孔板
- § 自动完成复杂繁琐的液体处理工作
- § 体积小巧、占地面积小
- § 与储板器整合可一次自动处理 50 块标准微孔板
- § 专利的 Dual-Action 洗头
- § 细胞清洗功能, 适用于弱贴壁培养细胞

§ 专利的超声清洗功能, 解决洗板机堵针问题

§ 自动缓冲液切换功能, 可同时使用 1-4 种缓冲液, 可以完成复杂的清洗流程

部分型号:

406PU1 –洗板模块和 1 种试剂分液模块(1 个蠕动泵): 含 96 通道(96/384 孔清洗)洗头

406PSU2 –洗板模块和 3 种试剂分液模块(1 个蠕动泵, 2 个注射器泵): 含 192 通道(快速 384 孔清洗)洗头

406PSUB3 –洗板模块和 3 种试剂分液模块(1 个蠕动泵, 2 个注射器泵): 具有 4 种洗液自动切换功能和可更换 96 通道(96/384 孔清洗)及 192 通道(快速 384 孔清洗)洗头

注: 更多型号配置信息, 请登录 BioTek 网站查询。

所有型号均包含 Liquid Handling Control PC 软件和 EL406 面板控制软件

可选配件:

* 洗液/废液系统-可选 4L 或 10L 试剂/废液瓶, 标准或高流量真空泵, 115V 或 230V 电源适配

* 产品质量控制包

* BioStack 微孔板储板器

注: 所有带洗液自动切换的型号都包含洗液系统。只需额外订购废液系统和真空泵。使用不含表面活性剂的洗液清洗 384 孔板时, 推荐配置高速泵。

08 《科学》十大突破最高奖：细胞程序重排技术

生物通报道，今天《科学》杂志公布了 2008 年度科学届十大重大突破成果。在其年度十大科学突破名单中，将最高的奖项授予了细胞程序重排技术。其中最耀眼的 iPS 技术自 2007 年出现以来，就被 Science, Nature, Times 列为 07 年的十大科学突破，2008 年 iPS 一如既往地阔步飞跃，取得了令人瞩目的成绩。

《科学》杂志将最高荣誉授予细胞程序重排技术的理由是：短短一年时间，iPS 技术从将正常细胞转变为诱导多能干细胞（iPS）进步到可以将病人体内异常的细胞诱导为诱导多能干细胞（iPS）。听起来就像是魔法般，从有病的细胞变成无病的细胞，那么由此推开去，有病的机体也可以通过这种办法变成没病的机体，病人可以变成健康人。

据《科学》杂志主管新闻的副主编 Robert Coontz 说，当《科学》杂志的作者和编辑开始着手挑选本年度最大的科学进展的时候，我们在寻找回答宇宙是如何运作的重大问题以及那些为未来的发现铺平道路的研究。我们首选的是细胞程序的重新设定，这项研究几乎一夜之间开启了一个生物学的新的领域，它有希望改变医学治疗现状，挽救更多的病患。

生物通在此为各位读者详解细胞程序重排技术的发展历程，主要分三个部分，一、iPS 的起源；二、入选《科学》年度十大科学突破的理由；三、根据生物通往期的报道，整理 iPS 2008 年取得的进展，解析国外以及国内的研究突破。生物通报道了大量 iPS 技术今年取得的进展，并且 iPS 技术已经入选生物通十大新闻评选候选新闻名单，请赶快投下您神圣的一票，[Sigma-Aldrich 特约之 2008 生命科学十大新闻评选](#)

一、iPS 起源

在 iPS 技术以前，科学家们很早就开始尝试细胞重新编程的研究工作，期望将分化的细胞重新编程获得具有干细胞样的多能细胞，在这个领域里，发展了三种技术：体细胞核移植术、细胞融合术和体外培养术。

然而，体细胞核移植术应用到人类需要人的卵细胞，涉及伦理问题，因此，在人类身上该技术停滞发展步伐，被科学家们渐渐遗弃。细胞融合技术因细胞的融合不可避免地使用杂交细胞多出的一套染色体，因此限制了此法在临床上的应用。体外培养技术因大多会缺失 MHC I 而被天然杀伤细胞识别和误杀因此也得到的临床上的应用。

历史的巨轮在前进，尽管这些方法最终告败，但是在这些研究中积淀了很多关于细胞程序重排的宝贵经验，科学家们逐渐了解到细胞重排过程中所需要的一些诱导转录因子。当反转录病毒载体技术发展起来，科学家们开始尝试将病毒载体携带转录因子导入分化细胞中，iPS 技术吸收了细胞程序重排技术 50 多年的精华后横空出世。

2007 年 11 月 20 日，美国和日本两个独立研究小组分别宣布，他们的研究人员成功地将人体皮肤细胞改造成了几乎可以和胚胎干细胞相

媲美的干细胞。

这两个独立研究小组分别是美国威斯康辛大学麦迪逊分校的一个研究小组和日本京都大学一个研究小组，有趣的是，他们的研究成果分别发表在顶级杂志上，美国研究小组的文章发表在 11 月 22 日出版的《Science》杂志上，日本研究小组的文章发表在 11 月 30 日出版的《Cell》杂志上。

领导日本研究小组的是京都大学的山中伸弥教授，他早在 2006 年发现，将 Oct3/4、Sox2、c-Myc、Klf4 这四个转录因子的基因，通过反转录病毒载体转染整合到 MEFs（小鼠胚胎成纤维细胞，mouse embryonic fibroblasts）和 TTFs（小鼠尾尖成纤维细胞，tail-tip fibroblasts）的核基因组后，将这些细胞诱导成了像 ES 细胞一样具有多向分化潜能的干细胞，由这种方法得到的细胞称为 iPS 细胞。由此，诱导体细胞为 iPS 细胞成为了细胞重编程领域研究的热点。

到了 2007 年后，科学家们的研究焦点从小鼠的成纤维细胞转向人类的细胞。干细胞史上划时代的里程碑时刻到来了。2007 年 11 月，日本山中伸弥研究小组和美国华人女科学家俞君英研究小组分别成功地将人类的成纤维细胞诱导成了 iPS 细胞，使得利用 iPS 细胞用于临床治疗的可能性又向前迈进了一步。

二、入选《科学》年度十大科学突破的理由

iPS 自 2007 年出现以来，就曾荣登 Nature Science Times 年度十大科学成果突破榜，缘何今年 Science 年度十大科学突破的最高奖项又再次花落与 iPS 有密切联系的细胞程序重排技术。听我一一道来。

2008 年，iPS 技术沿袭 2007 的余热，受到多个实验室的关注，在这一年里取得了诸多突破。Science 杂志的编辑们认为，本年度 7 月 31

日 Science 发表一篇来自哈佛大学和哥伦比亚大学研究者的文章，据哈佛大学的 Kevin Eggan 介绍，研究小组从一名 82 岁的肌肉萎缩性（脊髓）侧索硬化（amyotrophic lateral sclerosis, ALS）女性患者的皮肤细胞中提取病态的皮肤细胞，通过 iPS 诱导技术将病态细胞转变为诱导多能干细胞，并经过定向诱导促使其分化成运动神经元（在 ALS 患者体内发生病变的就是运动神经元）。（详细报道请点击：[Science: ips 又有新突破](#)）

将病态细胞转化为诱导多能干细胞对临床治疗来说不仅规避了伦理问题，还消除了抑制排斥的问题。

尽管还没有在临床上试验这些细胞的治疗效果，但是 iPS 技术实现了三级跳，从小鼠的成纤维细胞诱导干细胞—人皮肤成纤维细胞诱导干细胞—病态皮肤细胞诱导干细胞。

iPS 技术为再生医学带来了极大的希望，尽管临床应用前路漫漫，今年的 iPS 技术取得了瞩目的成就，向 iPS 临床应用又迈进了一步。研究者们对 iPS 治疗帕金森，I 型糖尿病等疾病寄予厚望。

另外，哈佛大学干细胞研究所的 Douglas A. Melton 今年 8 月在 Nature 发表了一篇文章，进一步深化了 iPS 技术的研究，他们在小鼠体内通过基因重排技术，将三个重要的转录因子 Ngn3、Pdx1 和 Mafa 导入小鼠分化成熟的胰腺外分泌细胞内，经过重排后的胰腺外分泌细胞诱导转变成成为胰腺 β 细胞，重排产生的 β 细胞从大小、结构以及超微结构来说与内生胰腺 β 细胞没有差异。这一研究成果表明，细胞重排技术发展到现在阶段可以直接将器官中的成体分化细胞经过程序重排诱导成我们想要的功能细胞，而绕过了先诱导成多能干细胞再定向分化的繁琐操作。

三、根据生物通往期的报道，整理 iPS2008 年取得的进展，解析国外以及国内的研究突破

除了 Science 列举的细胞重排技术的进展外，在 2008 年中，iPS 技术得到了极度的关注，也取得了不可小觑的成果。

iPS 技术有三个极大的硬伤，一个是致癌性；一个是效率低。这两个问题是 iPS 技术从理论迈向临床应用需要跨越的鸿沟。当然，值得高兴的是，这些难题都在 2008 年一一被破解。

难题一：致癌性（c-Myc 具致癌性）

在四个转录因子中，c-Myc 是一个具有致癌性的转录因子，带有 c-Myc 的慢病毒载体会将该因子导入宿主基因组中，导致细胞产生癌变。本想用于致病救人的方法无奈却有致癌性，恐怕这病还是不好治，治疗恐怕后果更严重。

国外进展

致癌当然不容小觑，在这方面率先取得成果的来自麻省理工和哈佛大学的研究先驱。

来自麻省理工的 Ruth Foreman 在 8 月 6 号的《Cell Stem Cell》上发表文章，用 Wnt 取代 c-Myc 可以致病 iPS 并且消除致癌障碍，但是 Wnt 却会降低 iPS 的转化效率，因此研究者通过改进，将 Wnt3a 取代 c-Myc，确保成功诱导 iPS 且不降低诱导效率，实验证明还具有提高转化效率的功效。（详细报道请点击：[Cell: 麻省理工突破 iPS 致癌障碍](#)）

来自哈佛大学干细胞研究所的科研人员不甘落后，也找到解决 iPS 致癌问题的答案。本年 10 月 12 日，哈佛大学的研究者在《Nature Biotechnology》上发布研究成果，他们使用一种化学因子丙戊酸（valproic acid, VPA）取代 c-Myc 与 Klf4 转录因子，可诱导人类成纤维细胞基因重排进而转化成 iPS 细胞。（详细报道点击：

[Nature 子刊：iPS 革新技术突破致癌障碍 安全 iPS 指日可待](#)）

哈佛大学 Konrad Hochedlinger 等在今年 9 月 25 日 Science 杂志上发表了另一种突破致癌障碍的新方法，他们用腺病毒在载体取代反转录病毒载体，在细胞体内瞬时表达四个转录因子，因腺病毒载体不会将转录因子整合到细胞的基因组中因此不会导致癌症的发生（详细报道请点击：[最新《科学》：iPS 技术里程碑](#)）。

国内进展

值得一提的是，在国内，北大邓宏魁教授也找到了解决致癌难题的方法，11 月 6 日，邓宏魁带领的研究小组在《Cell Stem Cell》上发表研究成果。研究小组将 p53siRNA 导入诱导细胞中，可抑制细胞发生癌变。（详细报道点击：[北大 Cell Stem Cell 发 iPS 里程碑式成果](#)）

难题二：效率低（效率仅 1/1000）

国外进展

哈佛大学 Konrad Hochedlinger 可谓是高产的科学家，在 iPS 研究上一直处于前沿的地位。他们在 9 月 11 号《Cell Stem Cell》发表文章，描述了一种新的诱导 iPS 的平台，只需要用药物-病毒系统就能产生 iPS 细胞，该方法独特之处在于用 doxycycline 来控制转录因子的表达，只要清除掉 doxycycline，原代的 iPS 细胞就会分化成成熟的细胞，当再次接触 doxycycline 时，又促进细胞第二次程序重排，产生第二代 iPS 细胞。这一技术平台可最大效率优化 iPS 技术，提高 iPS 的诱导效率。（详细报道点击：[Cell: 哈佛 iPS 取得重大突破](#)）

另一个研究团队也解决了这一问题，来自 Salk 研究所的科学家联合意大利、西班牙的研究人员从头发中提取角质化细胞，诱导成 iPS，有

趣的是，用经典的方法进行诱导，用反转录病毒载体导入 4 个转录因（Oct4、Sox2、c-Myc和 Klf4）子后，角质化细胞的转化成iPS的效率高达 1/10，比传统的效率高整整 100 倍。该文发表在 10 月 17 号的 Nature 子刊，《Nature Biotechnology》上。你不禁要问，效率提高如此多倍的原因是什么？答案连研究者也不知道，当然，他们也会在未来的研究中找到原因。（详细报道请点击：[Nature子刊：iPS重大突破 诱导效率提升 100 倍](#)）

国内进展

在国内，北大邓宏魁教授也找到了解决效率低的方法，11 月 6 日，邓宏魁带领的研究小组在《Cell Stem Cell》上发表研究成果。研究小组将p53siRNA与UTF1 导入诱导细胞中，可提高iPS的诱导效率 100 倍，效率达 1/10。（详细报道点击：[北大Cell Stem Cell发iPS里程碑式成果](#)）

2007 年，中科院广州生物医药与健康研究院华南干细胞与再生医学研究所裴端卿 11 月 6

日在《细胞研究》（Cell Research）上发表文章，利用了未经修饰并且不带有选择标记的小鼠成体细胞，探索出了直接运用 iPS 技术的新途径，并获取了近千分之三左右的高成功率。

iPS 其他进展

今年 10 月，裴端卿于JBC曾发表文章，发现一类诱导iPS细胞的新类型，研究发现小鼠脑膜细胞Sox2 表达量非常高，易于诱导为iPS细胞。（详细报道请点击：[裴端卿JBC发干细胞技术新成果](#)）

日本产业技术综合研究所骨干研究员大串始的研究小组 8 月 21 日在东京举行的研讨会上宣布，从拔下的智齿所含细胞中成功培养出了新型万能细胞“iPS 细胞”。

亲爱的读者朋友，如果您觉得国外或是国内还有 iPS 的重大突破是生物通编辑所遗漏的请留言，编辑将及时更新。

（生物通 张欢）

2008 十大突破：基因组测序多快好省

从 2007 年一路走来，新一代测序技术都闪烁着耀眼的光芒，也承载着全人类的希望。在规模宏大的人类基因组计划完成之后，千人基因组计划、癌症基因组计划陆续启动。如果每个基因组图谱都需要 13 年，那么千人基因组计划需要一万年才能完成。一万年，无法想象，也许地球已经不存在了。实际上，千人基因组计划的预计完成时间是三年，而不是一万年，凭什么？凭的就是新一代测序技术。

2005 年 454 公司首推划时代的新一代测序仪，从而引发了测序市场上 454、Illumina、ABI 等公司在新一代测序技术上的比拼高潮。也正是这种你追我赶，让绘制人类全基因组图谱由过去的耗费 4.37 亿美元和 13 年时间，骤然缩短到如今 SOLiD 3 运行一次即获得 20GB 可定位测序数据，相当于人类基因组的 7 倍覆盖度，费用低于 6 万美元。

世界著名的 Sanger 研究院更是极好的范例。虽说它以“测序之父”Sanger 的名字命名，但它还是摒弃了传统的 Sanger 测序，投入新一代测序技术的怀抱。成果也是相当显著，研究院 6 个月内的测序量相当于 300 个人类基因组，也就是说，一星期就能搞定 15 个。这只是 7 月份的数据，说不定现在又翻了几番。

2008 年的基因组研究硕果累累。第一个个人基因组图谱、第一个中国人、第一个女性、第一个癌症病人、第一个非洲人的基因组图谱陆续出炉，这么多的第一个，绝不是偶然。这也是新一代测序技术在 07 年被评为年度技术之后，今年仍然跻身十大突破之列的原因。

在此，我们盘点了 08 年最具代表性的基因组研究成果，让大家进一步了解新一代测序技术。

首张个人基因组图谱

在 4 月 17 日的《自然》杂志上，美国贝勒医学院和 454 公司的科学家发表了首个利用新一代测序技术得到的全基因组，而接受这一全基因组测序的不是别人，正是“DNA 之父”詹姆斯·沃森。该成果标志着人类基因组测序领域的又一个里程碑，新技术向个人化基因组这一伟大目标又迈进了一步。

研究小组确定出这个基因组中有 330 万个 SNP，其中超过 60 万个是之前未知的。大约 10500 个 SNP 导致氨基酸替代，进而可能改变蛋白质功能。另外，他们还检测到 20 万个小的插入和删除多态性，以及少数的拷贝数变异，这些能导致染色体区域中的局部变化。值得一提的是，他们还测序了人类参考基因组中不含的基因组序列部分。这次测序总共只花了不到 150 万美元，耗费的时间只有 4 个月。

首张女性个人基因组图谱

沃森之后，终于轮到了克里克。一个月后，世界上首张女性个人基因组图谱出炉。这次的 DNA 测序是由荷兰莱顿大学医学中心通过 Illumina 公司的 1G 测序仪来完成的，总共测定了约 220 亿个碱基对，几乎相当于人类基因组碱基对数量的 8 倍。测序的对象是莱顿大学的临床遗传学家克里克博士。整个项目大约花费 4 万欧元（约 6.33 万美金）。这不包括后续生物信息学进一步分析的费用。

首张中国人基因组图谱

10月11日深圳华大基因对外宣布,他们已经成功绘制完成第一个完整中国人基因组图谱(又称“炎黄一号”),这也是第一个亚洲人全基因组序列图谱。该项目是我国科学家继承国际人类基因组计划1%任务、国际人类单体型图谱10%任务后,用新一代测序技术独立完成的100%中国人基因组图谱。这个研究成果登上了11月6日的《nature》杂志封面。其中所用的基因组DNA来自杨焕明院士,前北京基因组研究所所长,也是文章的作者之一。

研究人员利用 Illumina 公司的 Genome Analyzer 测序仪对整个基因组进行测序,测序数据总量达到 1177 亿碱基对,基因组平均测序深度达到 36 倍,有效覆盖率达 99.97%,变异检测精度达 99.9%以上。同时研究人员从中识别出了大约 300 万个 SNPs,其中 13.6%在 dbSNP 数据库中没有出现过,基因型分析证明这些 SNP 具有高精确性和一致性。

首个癌症基因组图谱

11月,美国科学家首次完成了白血病患者的完整基因组测序工作。同时,研究小组还从患者的皮肤中取得样品获得了全基因组图谱,将两者进行比对。最终发现了 10 个发生了后天性突变的基因,其中 2 个就是先前研究者已经找出的基因,这 2 个基因主要促进癌症的发生。有趣的是另外 8 个基因在所有的癌症细胞中都存在,但是关于它们的功能现在科学家们了解的很少。测序技术将为癌症的靶位治疗带来新的契机。

首张非洲人基因组图谱

早在今年 2 月,美国 Illumina 公司就宣布已经对一名非洲男子进行了完整的基因组测序,文

章刊登在 11 月的《Nature》杂志上,与炎黄一号、癌症基因组图谱同日刊出,彰显了新一代测序技术的强势。

此外,前不久韩国研究机构宣布,第一个完整的韩国人基因组图谱已经绘制成功。测序分析中使用的遗传物质来自于嘉泉医科大学教授金圣镇。染色体碱基序列分析发现,在非洲人、西方人及东方人中,韩国人的基因属于东方人类型,居中国人和日本人之间。以单核苷酸多态性位点(SNP)分析,金圣镇的染色体与美国沃森和中国杨焕明此前发表的染色体序列的差异度分别为 0.05%和 0.04%。

研究还发现,金圣镇的染色体具有 323 万个单核苷酸多态性位点,与沃森、文特尔和杨焕明等三人在研究成果中发表的染色体结构相对比,其中有 158 万个单核苷酸多态性位点未得到清晰阐述。这意味着在每 1 万个 DNA 碱基中分布有 6 个。韩国研究人员相信,这些相当于人类染色体全长的 0.06%的单核苷酸多态性位点是韩国人所特有的。

除了以上这些振奋人心的个人基因组之外,在新一代测序技术的协助下,许多植物、动物和微生物的测序工作也陆续完成。美国科学家近日通过一团来自数万年前死亡的两头猛犸象的毛发,成功破译出了猛犸象 80%的基因组。我们的国宝大熊猫“晶晶”基因组框架图也正式绘制完成。此外,还有许许多多的研究成果。

也许,几年后,我们花几百块或几千块,就能拿到一张自己的基因组图谱。让我们拭目以待。

(生物通 余亮)

2008 十大突破：首个脊椎动物的发育蓝图

长期以来，描绘脊椎动物的胚胎发育是一件极其困难的事情。迄今为止，科学家只对 2 种多细胞有机体做过类似的研究。一种是海鞘，一种是线虫，它们都是用传统的显微镜来完成的。

但是，当传统的显微镜遇上复杂的脊椎动物，就显得有些力不从心了。让我们来比较一下，在线虫胚胎发育时，需要跟踪 671 个细胞；而分析复杂的脊椎动物胚胎往往要同时追踪几万个细胞。高的时空分辨率、超低的光漂白速率、杰出的信噪比，这些都是追踪的关键。

2008 年，这项技术终于有了突破。首个脊椎动物的完全发育蓝图出炉了。德国海德堡欧洲分子生物学实验室 (EMBL) 的 Keller 及其同事，利用数字扫描激光荧光显微镜 (DSLIM)，在超过 24 个小时的时间内监测了斑马鱼胚胎由单个细胞生长成几万个细胞的情况。研究人员用激光显微镜从多个方向扫描了标本，创造了 40 多万张图片，得到了关于细胞位置、运动及分裂的大量数据，并制成了三维影像。文章发表在 2008 年 10 月的《Science》杂志上，并被评为 2008 年十大科学突破之一。

这个突破的核心是数字扫描激光荧光显微镜的发明。它实现了科学家们多年的梦想。

目前应用最广泛的荧光成像技术是共聚焦和多光子显微镜，它们提供了三维的分辨率，但缺乏了长时间记录胚胎发育中最关键的因素：高速成像、光毒性低。为了打破这些限制，EMBL 的研究人员在 2004 年发明了单层照明显微镜 (Single Plane Illumination Microscopy, SPIM)。

SPIM 使得科学家能够在模拟实际状况的介

质条件下观察较大样本(2mm~3mm)，而无需如操作传统显微镜那样，将样本切割或破坏后固定到载玻片上。它发出极细的一束光穿过样本，通过精心操纵样本在不同光平面中的移动，获取样本每一层的图像。聚焦区域以外没有其他光线，因此 SPIM 成像非常鲜明，没有通常的背景模糊现象。整个样本可以在显微镜下继续存活生长，这是其他显微镜无法做到的。通过采用细束的光而不是将整个样本瞬间置于强光照射之下，SPIM 同时也减小了光致损害，使样本生命得以延长。

在 SPIM 的基础上，为了改善成像质量、速度和易用性，Keller 等开发了新一代的数字扫描激光显微镜 (Digital Scanned Laser Light-Sheet Microscope, DSLIM)。DSLIM 的理念是激光扫描仪快速移动，将微米级的激光束垂直和平行地通过样本。

它与标准的光层显微镜相比，具有几个优势。首先，DSLIM 的每束光强度均一，这对大样本的定量成像非常关键。第二，DSLIM 不依赖于光圈来形成激光图像，因此减少了光学像差，改善了图像质量。第三，光源的整个照明能力集中在单束光上，照明效率达 95%。第四，DSLIM 能产生密度调节的照明模式 (结构化照明)，用于增强光线散射度高的样本如大胚胎的图像对比度。另外，DSLIM 的成像速度为 6300 万三维像素/秒，信噪比为 1000:1，单层的激发能量超低 (在斑马鱼实验中 488 nm 的每幅图像的能量

为 1.7 μ J)。

在实验中，胚胎包被在琼脂糖中，在整个实验中保持恒温（26.5C）。在单细胞状态时，将 H2B-GFP（人组蛋白-2B 和 GFP 报告基因的融合蛋白）的 mRNA 注射进去，定位染色质。这是细胞定位和细胞分裂的有效标记，在染色质密度发生改变时，能被直接观察到。成像连续进行了 24 小时，共拍摄了 40 万张图像。

研究人员观察到稳态的 GFP 浓度持续了约 12 个小时。但之后 12 小时的荧光强度水平保持恒定。这表明 DSLM 高速活细胞成像中的光漂白速率可以忽略不计。同时他们利用共聚焦显微

镜和双光子荧光显微镜进行了同样的实验，能量却高得多（共聚焦为每幅 9.6 mJ，双光子荧光显微镜为 1.7 J）。因此，DSLM 实现了斑马鱼胚胎发育的定量分析，持续时间超过 24 小时，时空分辨率高而光毒性超低。

说一点题外话，除了 DSLM，后续的图像和数据分析任务也是相当艰巨。EMBL 用了超过 1000 个 CPU 来进行后续分析，花费约 8 万欧元。他们还运用了国际上流行的 matlab 软件进行主要的数据处理。因此，这项突破实际上是生物学、工程学和计算机科学的共同结晶。

（生物通 余亮）

Science 十大科学突破之蛋白质篇

生物通报道：美国《科学》杂志上周公布了该刊评选出的 2008 年度十大科学进展，其中人体细胞重新编程领域的相关进展名列第一位(具体(见生物通独家报道[08《科学》十大突破最高奖：细胞程序重排技术](#))。)

在其它 9 项突破中，生物类相关的有 5 项，有关蛋白方面的主要是对于蛋白的实时观测，今年生物化学家遇到了重大的令人惊诧的事情：他们能看到蛋白在与它们的靶标结合后，可转换某一细胞的代谢状态，并起到了促成某一组织特性的作用。

从开始研究蛋白到如今已经一个多世纪了，对于蛋白如何结合到靶标上这一基本问题，科学家们一直存在争论，大多数人认为为了配合靶标分子的形状，蛋白需要调整到互补面，但是也有

人认为在结合过程中，溶液中的蛋白是通过慢慢转变其构造，直至发现其靶标。

如今来自德国和美国的生物信息学专家在这方面获得重要突破，观察到了蛋白与靶标结合的过程，发现蛋白会在许多构造间转换，另外一支来自美国的研究团队追踪了个体蛋白的运动，发现一随机单分子事件会导致一细菌分子从代谢状态转换成另一状态。

(生物通：万纹)

BD 推出干细胞分选试剂盒

BD 生命科学近日宣布推出 BD Human Pluripotent Stem Cell Sorting and Analysis Kit，利用流式细胞仪进行人多能干细胞的可靠鉴定和分选。BD 准备在明年推出一系列基于流式细胞仪的分析试剂盒，这次推出的试剂盒是该系列中的第一个。

这种即用型的多能干细胞鉴定和分选试剂盒包括了预滴定的荧光标记抗体，实验设定磁珠、验证过的实验步骤以及软件分析模板。此试剂盒针对现有的 BD 流式细胞仪优化过，开箱即用。即使经验不多的流式细胞仪用户，也能快速掌握这种方法。它同时将分析与分析之间的变异性减至最低，让结果更快更可靠。在抗体用完之后，能轻松补充抗体，满足特别的研究需求。

BD Human Pluripotent Stem Cell Sorting and Analysis Kit 能对多能干细胞进行分析和分选。它的主要特征如下：

- 荧光标记的抗体，特异针对两种多能标志物（Alexa Fluor 647 TRA-1-81 和 PE SSEA-3）和一种分化标志物（FITC SSEA-1），以及相应的同型对照；
- BD CompBead Plus 补偿微珠，简化实验设定并便于多色分析中的轻松补偿；

- 优化过的实验步骤简单易学，并能让人多能胚胎干细胞的鉴定和分选标准化。

BD 生命科学细胞分析部的总裁 William Rhodes 表示：“前沿的生物医学研究正变得越来越复杂，BD 生命科学为满足科学家们的需求，提供了完整的解决方案，开发出有效、综合的研究工具，帮助降低实验的复杂度并增加可靠性。全新的 BD Human Pluripotent Stem Cell Sorting and Analysis Kit 将让今天的研究者以更快的速度、更好的准确性和一致性来获得结果。”

BD 生命科学为干细胞研究者提供了最广泛的产品线，跨越干细胞分离、培养和分析。关于 BD Human Pluripotent Stem Cell Sorting and Analysis Kit 以及其他工具的更多信息，请访问：<http://www.bdbiosciences.com/stemcellsource>

（生物通 余亮）

流式细胞仪奖励计划，人人有机会

Millipore 公司和 Guava 科技公司近日联合宣布，将会奖励给一名科学家一台 Guava 的流式细胞仪，价值 10 万美元。条件是这名科学家的创新研究计划将会推动对细胞生物学的了解。

这项奖励计划是在美国细胞生物学大会上由 Millipore 的副总裁 Geoffrey Crouse 和 Guava 的 CEO Lawrence Bruder 共同宣布的。

申请时间为 2009 年的 1 月 1 日到 4 月 30 日，在 Millipore 和 Guava 的网站上都可提交（www.millipore.com 和 www.guavatechnologies.com）。两个公司的科学家小组将会共同审阅申请。之后，评审小组会挑出 5 名候选者，并与每一位候选者深入交流，了解他们的计划。流式细胞仪将在明年 5 月奖励给其中一名候选者。这项奖励计划对全世界所有实验室开放。

Crouse 表示：“这项奖励将会促进细胞生物学中干细胞分化、细胞信号、治疗药物的作用机理以及病理学的分子基础这些关键领域的研究开展。”

Bruder 则认为，这不是两家公司的合作，而是两家公司和整个学术界的合作。“将 Millipore 在荧光抗体的开发和分析验证方面的专长与 Guava 在流式细胞仪上的经验结合起来，让更多的研究者能接触这项强大的技术。”

在今年早期，Millipore 与 Guava 科技开始了长期的合作计划，向科研、政府、生物技术和制药领域提供优化的台式流式细胞仪产品和服务。

合作计划一宣布，马上就推出了 17 个试剂盒，用于干细胞鉴定和趋化因子受体的定量，并联合开发新一代的流式细胞仪。

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）

生命科技公司将利用人胚胎干细胞 构建疾病模型

生命科技公司（前 Invitrogen）近日宣布将利用人胚胎干细胞来开发肌萎缩性侧索硬化症（Lou Gehrig's Disease, ALS）和其他神经退化性疾病的研究模型。这项研究的资金来自加利福尼亚再生医学研究所（CIRM），该机构专门为加州的大学、私营公司和研究所提供资金。

根据 ALS 协会的数据，每年美国有近 5600 人被诊断出患有 ALS。肌萎缩性侧索硬化症是一种进行性的神经退化疾病，攻击运动神经元和脊髓。在神经死亡之后，正常的肌肉功能丧失，导致疾病晚期的瘫痪。

生命科技公司获得了 87 万美元的资金，为期两年。该公司将会利用人胚胎干细胞来构建疾病模型，并开发相关的步骤和试剂，用于遗传改造干细胞。ALS 的突变和病因已经通过动物模型有了大致了解。但还未能准确靶定突变基因，而且人的疾病通常不能在动物模型中完整还原。疾病的人类模型将用于筛选药物，并进行相关的药物分析。

这个项目的首席科学家刘颖（音译）博士表示：“在开发有效改造人类干细胞的新工具方面，我们已经表现出高水平的技能和创新性。我们的研究小组在改造人胚胎干细胞方面已经形成了核心竞争力。生命科技公司在干细胞领域大踏步前进。”

根据 CIRM 的说法，Tools and Technologies Awards 将会支持任何创造出干细胞研究新试剂和新方法，或对现有技术扩大化的研究。这项资金是为了加速慢性病治疗方法的开发。

关于生命科技公司

生命科技公司（纳斯达克代码：LIFE）是一家致力于改善人类环境的全球生物技术公司。我们的仪器、耗材和服务能让研究者加速科学探索与开发，让生命变得更美好。我们的客户在生物学领域努力工作，不断加速个性化药物、再生科学、分子诊断、农业和环境研究以及 21 世纪的法医鉴定。公司的历史销售额接近 35 亿，全球雇员达 9500 人，分布在 100 多个国家，并拥有 3600 多项知识产权专利及专有许可证。生命科技公司由 Invitrogen 公司 and 应用生物系统公司合并而成。更多信息，请访问我们的网站 www.lifetechnologies.com。

（生物通 余亮）

GE Healthcare In Cell 图像竞赛投票

继前两年成功在全球范围内举办 GE Healthcare 的高内涵活细胞成像分析系统 IN Cell Analyzer 用户细胞图像竞赛后，本年度的细胞图像竞赛活动即将展开。

经过层层初筛，我们已经从所有 80 多张最初参选细胞图像中精选出 30 张，所有图像都是使用 IN Cell Analyzer 拍摄获得的，包括了毒理学、肿瘤研究、神经学等方面的应用。



在整个评选过程中，来自网络的公开投票将是最重要的一环，我们希望来自同样研究领域的您能够参与其中，为评选投出宝贵的一票。

综合网络投票结果和 2009 年 CHI 高内涵会议的代表投票，我们会从全球所有的参赛者中选出 3 位优胜者（北美、欧洲、亚洲各一位），他们获得免费赴美国纽约旅游的机会，并且能够在

市中心的时代广场巨型屏幕上看到他们的细胞图像的展示。



[请点击此进入投票链接](#)，投票截止时间为 2009 年 1 月 5 日

前一百位来自中国大陆的投票者将获得由 GE Healthcare Life Sciences 邮寄送出的 2009 年精美月历一份，请在投票前的页面详细填写个人信息方便我们寄出礼品。

感谢您参与本次活动！

海南之夜推出神秘圣诞大礼 赛默飞世尔科技质谱新品发布

中国质谱学会第八届全国会员代表大会暨中国质谱学会第九届全国学术交流会于 08 年 12 月 11 日到 15 日在海口召开。作为质谱学界的一大盛事，历届质谱学会交流会也是业内学者百家争鸣，仪器厂商争奇斗妍的聚焦镜。

11 日晚，服务科学，世界领先的赛默飞世尔科技宴请各位与会代表。晚六时，结束了一天学术活动的与会代表们，在身着黎族特色服装的姑娘们和赛默飞世尔科技工作人员的引导下上了大巴。车子缓缓开入晚宴所在酒店，代表们惊喜的发现，路两侧 Thermo Scientific Logo 和 Welcome 字样的彩灯交替闪烁，仿佛已进入了 Thermo Scientific 的美妙世界。



圣诞大礼

进入酒店大堂，映入眼帘的高达 6 米的圣诞树，树身环绕 Thermo Scientific 和 Welcome 的彩灯闪闪发光，更增添了节日的温馨气氛。大堂中心圆筒展板形如巨型蛋糕，生动的描述了 Thermo Scientific 高级质谱广泛应用于食品安全、药物研发、生命科学、金属研究、地质学研究、核科学与核工业、环境监测等等众多领域，满足各种分析需求。而正对入口的巨大展板上书“赛默飞世尔科技新产品发布会”，页面中部展示了 Exactive 台式轨道阱高分辨质谱仪和 TSQ Vantage 高性能三重四极质谱仪的巨幅图片，并将相关技术图片别具匠心的影印于其中。而侧面

的投影幕布播放着 TSQ Quantum GC 气质联用仪大连发布会的录像。精美的技术展板、盛大的视听冲击，让代表们更深入的认识了赛默飞世尔科技的专业形象。



裴立文先生主持新品发布会

代表们陆续到齐，赛默飞世尔科技色谱质谱产品中国商务总监裴立文先生上台欢迎各位的到来，并隆重推出海南之夜的神秘圣诞大礼 [TSQ Vantage 高性能三重四极质谱仪](#) 和 [Exactive 台式轨道阱高分辨质谱仪](#)。



专家们关注的目光（左二：刘淑莹教授，左三：再帕尔教授）

紧接着，会场播放 TSQ Vantage 质谱 Video 短片，形象的阐述了 TSQ Vantage 采用的第二代离子光学系统从设计上尽可能避免离子损失，比市场上其它同类产品的灵敏度高 10 倍。赛默飞世尔科技色谱质谱产品南区销售经理蒋季春女士简洁的介绍了 TSQ Vantage 的技术优势：利用稳定的新型离子源、第二代离子光学系统和双曲面四极杆，TSQ Vantage 提供了最高的灵敏度和最低的化学噪音。



发布会现场

另一新品 Exactive 台式轨道阱高分辨质谱仪的 Video 颇具声势，牢牢吸引了与会代表的眼球。随后，赛默飞世尔科技色谱质谱应用经理王勇为博士介绍了 Exactive 的性能特点：作为当前拥有傅里叶转换性能的体积最小的质谱，Exactive 采用 Orbitrap 质量分析器技术，支持 Target Screening（目标筛选，与数据库比对）、Survey Screening（元素成分分析）和 Target Matching（目标匹配）三种关键工作流程，是化合物筛选和确证的有力工具。简洁明快的新品发布会历时仅半小时，却给与会代表留下了深刻的印象。

诸位代表步入宴会厅，享用赛默飞世尔科技精心准备的海南特色歌舞晚宴。高昂欢快的击鼓节目“水击长空”点燃了现场的气氛。本届学术会议主席刘淑莹教授、副主席再帕尔教授、秘书长李金英主任上台发言，感谢赛默飞世尔的盛情款待。



裴立文先生（左）与再帕尔教授（右）举杯欢庆



海南椰风宴

新采的椰青、原生态的歌舞和民族器乐演奏，都富含浓郁的海南特色。在城市高速发展、地方特色日趋消失的今天，更让人眼前一亮，欣喜非常。整场晚会精彩不断，互动连连。草裙舞、竹竿舞等节目中，各位学术专家和赛默飞世尔员工一扫矜持，大秀舞技。



草裙舞

让我们记住这欢乐时光，记住这海南风情，记住 TSQ Vantage 和 Exactive，来年再聚！



竹竿舞

关于赛默飞世尔科技

赛默飞世尔科技 (NYSE:TMO) Thermo Fisher Scientific(纽约证交所代码: TMO), 原热电公司,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 33000 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.thermofisher.com, 公司中文网站: www.thermo.com.cn