

# EBIOTECH

生物通技术周刊

第57期

2009年2月19日

全文下载

## 【技术前沿】

第三代测序技术揭密

你的表达载体升级了吗？

如何选择无细胞蛋白表达系统

高通量研究转录起始位点的新方法

## 【新品速递】

Invitrogen让Western自动化

GE Healthcare推出AKTReady液相色谱系统

Promega推出两种核酸纯化新品来应对复杂样品

## 【应用指南】

利用Biacore A100以多蛋白组方式进行基于选择性的化合物筛选

## 【行业动态】

Millipore以2260万美元收购Guava

Proemga和Celsis In Vitro Technologies携手推出更为可靠的原代肝细胞ADME/Tox检测解决方案

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

# 第三代测序技术揭密

在第二代测序技术的协助下，个人基因组图谱正在如火如荼地绘制中。但第二代测序技术很快就遇上了强劲的对手——第三代测序技术，也被称为“下、下一代的测序(next-next-generation sequencing)”。第三代测序技术是基于纳米孔(nanopore)的单分子读取技术，有着更快的数据读取速度，应用潜能也势必超越测序。

2月5日，基因组科学家们齐聚美国佛罗里达州的基因组生物和技术进展会议，来了解哪家公司的第三代测序技术能实现人类基因组的3分钟测序或以5000美元的价格出售。尽管科学家们对公布的数据表示谨慎乐观，但他们对于此类测序仪的优越之处仍心存疑虑。

## Complete Genomics

在2008年10月，美国加利福尼亚州的Complete Genomics公司曾宣称他们将在2009年以5000美元的价格售卖人类基因组，但当时没有公布支持数据。在这次会议上，该公司公布了一个人类基因组，据称是用9台仪器在8天内完成的。

该公司的CEO, Clifford Reid表示，他们将254GB的数据拼接成草图，覆盖某个匿名男性基因组的92%，每个碱基平均读取了91次。与目前应用中的高速测序，即第二代测序类似，Complete Genomics也产生短的DNA读长。通过对每个碱基的多次测序，它的目标是排除悄悄混入的可能错误。Reid认为这项技术非常准确，碱基错误的概率低于0.33%。这与目前的测序仪相当。

Complete Genomics并不出售测序仪，但用自己的测序仪来完成所有的内部工作。这让某些科学家质疑，但另一些却深受鼓舞。

速度和费用成为Complete Genomics的最大卖点。该公司并没有透露基因组测序的确切费用，

但据称每个基因组的原材料费用低至1000美元。它的目标是在上个月推出市场，今年对1000个基因组进行测序，明年测序数量达到20000个。

## Pacific Biosciences

在Complete Genomics做报告前的一小时，Pacific Biosciences的首席技术官Stephen Turner展示了大肠杆菌的完整基因组，并称每个碱基的平均读取了38次，准确率大于99.9999%。

Pacific Biosciences利用了单分子技术和DNA聚合酶，在反应的同时读取测序产物。尽管目前仪器的读取速度仅为3碱基/秒，但它的目标是在2013年前实现三分钟读完人类基因组。它还有望实现更长的读长。Turner表示大肠杆菌基因组的平均读长是586 bp，有些能达到2805 bp。某些科学家期望长读长能排除错误，让他们了解到难以读取的部分。

Pacific Biosciences打算在明年正式推向市场。同时，目前的测序技术，如Illumina、Applied Biosystems和Roche也正以惊人的速度制造数据，在单次几天的运行中产生相当于多个人类基因组的数据。速率不断增长的同时，费用也在下降。例如，Illumina在会议中表示它在今年年底能实现10000美元的人类基因组测序。

## Helicos Biosciences

并不是每家测序公司都这么幸运。Helicos

Biosciences 制造的第三代测序仪就被测序错误所困扰。就在会议前几天，Helicos 透露它的第一名顾客已经将测序仪退还。在这次会议上，该公司表示它已经拼接了线虫的基因组。但是它的历史问题和高昂的仪器费用，即使降低至 99.9999 万美元，与其他测序仪的 50 万美元左右的价格相比，仍然让许多科学家望而却步。

在会议前的研讨会上，来自多伦多安大略癌症研究所的 John McPherson 说出了大家的心声：

“Helicos 是单分子测序的先锋，但我认为他们还没有达到预定的目标。”但 Helicos 的首席技术官 William Efcavitch 却不认同这种说法，“关于我们不行的传闻太夸张了”。

许多科学家希望他是对的，他们期待着 Helicos 与其他公司继续竞争，以更低的价格获得更多的数据。一位科学家表示：“这种竞争是良性的。无论这些公司干得多好，我们都期望更多。”

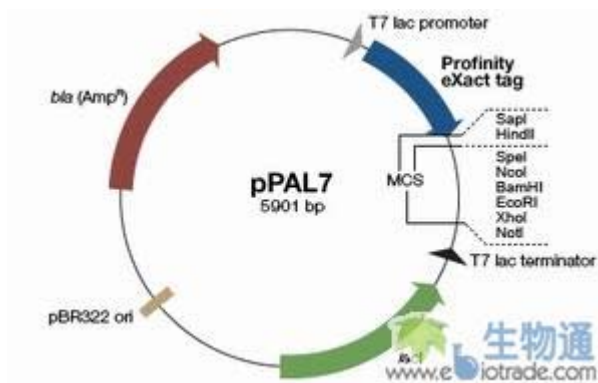
（生物通 薄荷）

# 你的表达载体升级了吗？

这几年来，你的表达载体是不是一直没更新过？那可有些跟不上潮流，生命科学领域发展迅猛，在 microRNA、干细胞、RNAi 等领域每天都有新发现。因此，基因表达的工具也变得更加多样化和专业化。是时候升级你的表达载体啦。许多表达载体简化了亚克隆或 PCR 等耗时的步骤，同时增加了一些增强子，提高了蛋白产量。在选择表达载体时最重要的考虑因素当然是你的宿主系统。检测方法同样是需要考虑的。现在市场上的大部分载体都具有 6×His 或 GFP 标签，能轻松鉴定和纯化表达产物。然而，任何标签都有可能干扰你的蛋白功能。因此，最近几年无标记的检测技术开始大热，你是不是也想尝试一下“裸蛋白”？本文介绍了一些最新的表达载体，希望其中有你想要的。

## Profinity eXact 表达载体

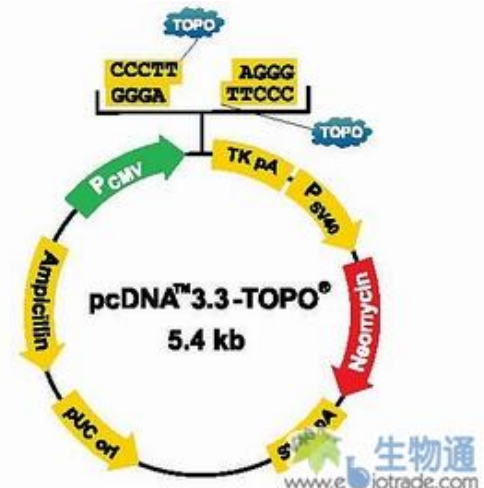
Bio-Rad



Profinity eXact 融合标签系统将亲和层析纯化和标签的去除整合成一步，解决了标签去除过程的技术瓶颈。它将目的蛋白克隆至 Profinity eXact pPAL7 表达载体上 Profinity eXact 标签的下游，从而产生了 N 端带有标签的重组蛋白。固定在 Profinity eXact 纯化介质上的丝氨酸蛋白酶突变体选择性地与 Profinity eXact 标签结合。通过结合后的清洗过程去除宿主细胞的杂质，然后加入 F- 或 N3- 精确地诱发了亲和标签与目的蛋白之间的酶切，从而导致 Profinity eXact 标签被固定的蛋白酶滞留在介质上，仅重组蛋白从层析柱上洗脱，无需其它处理即可将其进行下游应用。

## pcDNA 3.3-TOPO 载体

Invitrogen (Life Technologies)



pcDNA 系列的升级版。此载体利用 CMV 启动子/增强子的组合在大多数哺乳动物细胞中实现高水平表达。它可以瞬时转染贴壁细胞，也可与悬浮的 FreeStyle MAX 系列结合，大量表达 native 蛋白。克隆方式是 TOPO，很快很省心。

## pAdVantage™ Vector

Promega

将 pAdVantage 载体与您的载体共转染，能在多种细胞中增加蛋白的表达量。转染中产生的双链 RNA 会激活 dsRNA-activated inhibitor (DAI)，一种宿主细胞抗病毒防御系统中的酶。DAI

将转录起始因子 eIF-2 磷酸化，终止翻译和蛋白合成。然而，在共转染 pAdVAntage 载体后，RNA 聚合酶 III 产生的腺病毒 VAI RNA 能克服 DAI 的转录抑制。VAI RNA 与 DAI 结合，防止其激活，

实现翻译和蛋白表达。在 293 和 HeLa 细胞中，pAdVAntage 载体与荧光素酶载体的共转染能将荧光素酶的表达量至少提高 10 倍。

（生物通 余亮）



# 如何选择无细胞蛋白表达系统

GARY KOBS, PROMEGA 公司

在此,我们介绍了根据模板类型、期望产率以及下游实验等因素来选择无细胞蛋白表达系统的标准。

## 介绍

与基于细胞的蛋白表达系统相比较,无细胞蛋白表达系统具有独特的优势,包括节约时间(图1)、提高具有功能的、可溶的、全长蛋白的总体产量。此外,无细胞蛋白表达系统更适用于激酶等毒性蛋白的表达、也可使用经过修饰的 tRNA 来进行标记,在某特定位置掺入非天然的氨基酸。同时,这些系统还可以用于高通量实验(1)。我们提供完备的无细胞蛋白表达系统,为研究者提供了多种选择,可用于进行蛋白的特征描述,包括免疫沉淀、Pull-down 实验和酶学检测。



图 1. 与细胞内蛋白表达相比,无细胞蛋白表达系统能够显著地节约时间。

选择一个无细胞蛋白表达系统,最主要的几点考虑因素包括细胞提取物或裂解物的来源、模

板以及期望的蛋白产量。本文介绍的信息可帮助研究者选择适合其实验体系和下游应用的无细胞蛋白表达系统。

## 考虑因素 — 模板

在使用插入片段或载体进行真核细胞系统蛋白表达时,有以下几个因素需要考虑:(i)ATG 起始密码子应该是位于转录起始位点下游的第一个 ATG 密码子;(ii)理想化而言,在启动子之后,ATG 应该包含在 Kozak 共有序列之内;(iii)在模板序列的 3'端应包含终止密码子;(iv)终止密码子之后应带有合成的多聚 A 尾(2)。此外,使用 TNT® T7 麦胚偶联系统(TNT® T7 Coupled Wheat Germ System)时,载体还应包含一个 T7 终止子序列或该载体呈线性化。

在原核系统中,起始密码子的选择几乎无一例外地依赖于核糖体结合位点(ribosomal binding site, RBS)的存在,这个位点包含了阅读框架的起始信号(2)。经过优化的核糖体结合位点能够大大提高原核细胞内蛋白的表达。原核系统不识别位于 ATG 起始密码子上游的任何 ATG,除非这些 ATG 含有一个处于合适位置的核糖体结合位点。

使用兔网织红细胞裂解物(Rabbit Reticulocyte Lysate, RRL)时,DNA 介导的蛋白合成与 mRNA 为起始的蛋白合成相比较,具有以下优点:当进行高水平的蛋白合成时,不需要处理 mRNA 的繁杂操作过程。

## 基于真核细胞 RNA 的翻译

在 1950 至 1960 年间, 研究人员证实了兔网织红细胞裂解物可以经过人为操作, 用于外源 mRNA 介导的蛋白合成, 这样可以只把感兴趣的蛋白合成出来(1)。经过核酸酶处理的兔网织红细胞裂解物和 Flexi®兔网织红细胞裂解物均增加了一些添加剂, 为 mRNA 的翻译过程进行了优化。这些添加剂包括氯高铁血红素—用于防止亚铁血红素调节的 eIF-2 $\alpha$  激酶(HRI)的激活作用; 能量生成系统, 含有经过测试的磷酸肌酸激酶和磷酸肌酸; 以及小牛肝脏 tRNA—用于平衡消耗的 tRNA 种类, 这样可以优化密码子的使用, 并扩大可被高效率翻译的 mRNA 的范围。与经过核酸酶处理的兔网织红细胞裂解物相比较, Flexi®兔网织红细胞裂解物系统可提供更强的灵活性, 能够将翻译反应的很多参数进行优化, 这些参数包括 Mg<sup>2+</sup>浓度、K<sup>+</sup>浓度, 以及 DTT 的存在与否。

麦胚提取物(Wheat Germ Extract, WGE)含有合成蛋白所需要的细胞组分(tRNA、核糖体、起始因子、延长因子以及终止因子)。该提取物系统做了进一步优化: 添加了由磷酸肌酸和磷酸肌酸激酶组成的能量生成系统; 添加了亚精胺, 用于加强蛋白链延长的效率, 以防止蛋白链的终止过早地发生; 添加了醋酸镁, 并使其浓度适合大多数种系 mRNA 的翻译。最后, 还单独提供了醋酸钾, 以用于优化更多种类的 mRNA。

麦胚提取物适用于表达小分子的蛋白, 或用于表达富含于兔网织红细胞裂解物中的蛋白。当 RNA 制备物中含有少量的 dsRNA 或硫醇时, 该系统也很适用, 上述这些物质具有抑制翻译的作用。在表达植物蛋白、酵母蛋白或其它真菌蛋白时, 研究人员也会发现麦胚提取物比兔网织红细胞裂解物更合适。

### 基于真核细胞 DNA 的转录和翻译

二十世纪九十年代, 偶联的转录/翻译(即

TNT®)系统被开发出来, 该系统包含兔网织红细胞裂解物或麦胚提取物, 并带有 T7、T3 或 SP6 RNA 聚合酶, 这些系统使基于 DNA 的蛋白合成成为现实。

TNT®兔网织红细胞裂解物转录/翻译偶联系统 (TNT® Coupled Reticulocyte Lysate Transcription/Translation Systems)和 TNT®快速转录/翻译偶联系统 (TNT® Quick Coupled Transcription/Translation Systems)仅需一个试管, 即能够以质粒为模板转录和翻译蛋白(图 2)。常规的 TNT®偶联系统中的不同组分以单独包装提供, 包括三种氨基酸混合物: 甲硫氨酸缺失的混合物、半胱氨酸缺失的混合物或亮氨酸缺失的混合物。TNT®快速偶联系统提供一个混合母液, 包含所有的反应组分(包括甲硫氨酸缺失的氨基酸混合物), 减少了加样步骤, 节约了时间。TNT® T7 PCR DNA 快速系统(TNT® Quick for PCR DNA)是为 PCR 反应产生的线性 DNA 模板而特别设计, 这样的模板比质粒 DNA 模板往往要求更高的钾离子和镁离子浓度。

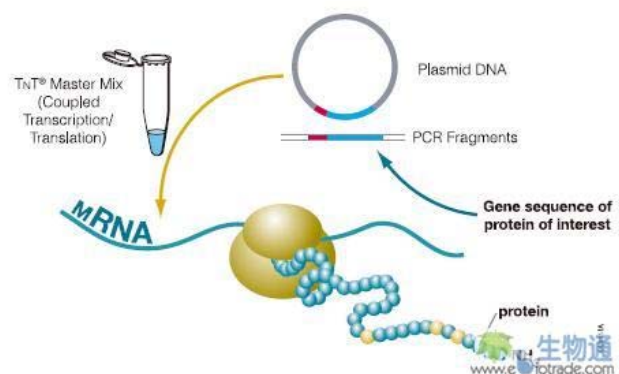


图 2. TNT® 兔网织红细胞裂解物转录/翻译偶联系统以质粒为模板, 在一个试管内完成转录和翻译; TNT® PCR DNA 快速系统对于 PCR 模板效果良好。

对于真核细胞转录/翻译偶联反应, 除兔网织红细胞裂解物之外, TNT®麦胚提取物系统 (TNT® Coupled Wheat Germ Extract Systems) 是又一个选择, 后者也是单个试管的反应模式。

普通的麦胚提取物通常是利用 SP6, T3 或 T7 RNA 聚合酶启动子在体外合成 RNA, 然后再进行翻译反应。与此不同的是, TNT®麦胚提取物系统将转录反应直接整合到翻译反应混合物中。

### 基于原核细胞 DNA 的转录和翻译

E. coli S30 提取物系统(E. coli S30 Extract Systems)是从 E. coli B 菌株制备而来, 该菌株中 omp T 胞内蛋白酶和 lon 蛋白酶活性缺失。这种缺失能够大大提高被表达蛋白的稳定性, 否则, 在细胞内表达的蛋白会被蛋白酶所降解。E. coli S30 提取物系统能够表达更多量的蛋白, 这些蛋白在细胞内表达时, 由于宿主编码的抑制剂的激活, 这些蛋白的表达量很低。E. coli S30 提取物的 DNA 模板可以是线性的, 也可以是环状的。线性 DNA 为模板的 S30 提取物(E. coli S30 Extract System for Linear Templates, Cat.# L1030)是从 E. coli B 菌株中制备的, 该菌株核酸外切酶 V(recBCD enzyme)缺失。以线性 DNA 为模板的 S30 提取物比以环状 DNA 为模板的 S30 提取物(E. coli S30 Extract System for Circular DNA, Cat.# L1020)和 T7 S30 提取物(E. coli T7 S30 Extract System for Circular DNA, Cat.# L1130)的活性低。在使用这些系统时, 研究人员仅需准备带有适当的原核细胞启动子和核糖体结合位点的克隆 DNA 即可。

[点击索取Promega公司无细胞表达系统的详细资料](#)

以环状 DNA 为模板的 E. coli T7 S30 提取物系统(Cat.# L1130)简化了克隆在质粒或 Lambda 载体上的 DNA 序列的转录/翻译反应, 该提取物中包含用于转录的 T7 RNA 聚合酶, 以及翻译反应所需的所有必备组分。研究人员仅需提供带有 T7 启动子和核糖体结合位点的克隆 DNA。

### 考虑因素 — 蛋白产量

对于大多数体外表达系统而言, 每 50µl 反应体系可产生皮摩尔级或纳克级的蛋白量。通常, 该产量足够用于大多数的蛋白放射性分析、荧光分析以及抗体分析, 例如聚丙烯酰胺凝胶分离、Western blotting、免疫沉淀; 或者, 也可进行酶学或生物活性的检测, 这取决于目的蛋白的特性。如果是放射性检测, 应在翻译反应体系中加入同位素标记的氨基酸, 翻译反应结束后, 可使用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)结合放射性自显影来检测目的蛋白。或者, 也可使用非放射性标记方法, 如荧光法、化学发光法或比色法(如, Promega 的 FluoroTect™ 系统(Cat.# L5001) 和 Transcend™ 系统(Cat.# L5070, L5080))。

如果拥有现成的目的蛋白的抗体, 也可以使用免疫杂交或免疫沉淀的方法来进行检测。通常, 从体外翻译反应得到的蛋白, 其功能活性可在翻译反应混合物中直接进行检测。如果有必要纯化蛋白, 可将目的蛋白与纯化标签融合, 使目的蛋白便于从体外翻译反应体系中纯化出来, 然后可进行进一步研究。

### 高产率的无细胞蛋白合成

如前所述, 大多数无细胞表达系统所产生的蛋白量是有限的。用于表达真核细胞蛋白的麦胚提取物经过进一步修饰, 能够提高蛋白表达量, 可用于多种功能和结构蛋白质组学研究。SP6 TNT®高产率系统(TNT® SP6 High-Yield Wheat Germ Protein Expression System, Cat.# L3260, L3261)使用高产率提取物, 补充了 SP6 RNA 聚合酶以及其它组分。分批模式下, 该系统可合成的蛋白量是 100 µg/ml, 使用透析模式时, 可得到 200–400 µg/ml 的蛋白(图 3)。此外, 可不经蛋白纯化, 即可在反应体系内直接进行酶活性的检测(图 4, 参考文献 3)。通过亲和和标签, 可完成简便的纯化, 仅需一步即告完成。也可经过微小的



修改，在该体系内实现对目的蛋白的标记。

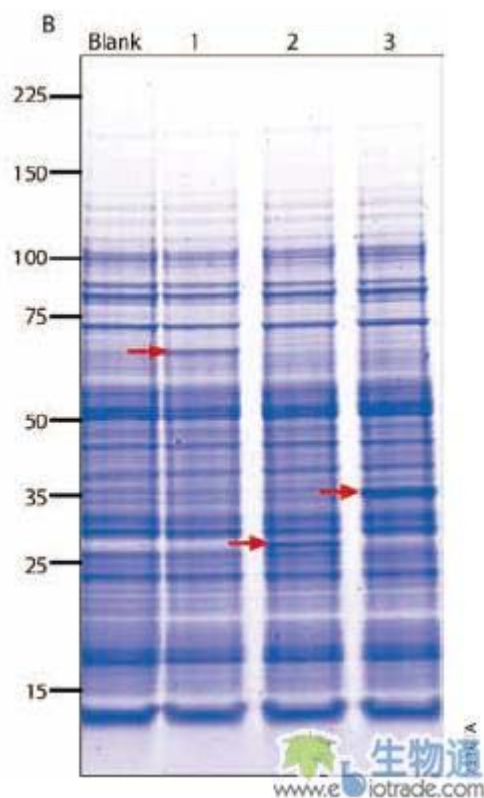


图 3. Coomassie® 染色的 SDS PAGE。使用 TNT® SP6 高产率提取物系统以透析模式表达蛋白，反应体系位为 100μl，质粒模板 8μg，提取物 60μl。

反应体系置于透析杯 (MWCO 12,000 BioTec International, 经销 -Daiichi Pure Chemicals DBC Code 212956) 内，Uniplate(Whatman®)中含有 2.5ml 透析缓冲液，于 25℃ 孵育 18 小时。透析缓冲液含有 12 mM HEPES、0.5 mM 亚精胺、5 mM DTT、80 μM 氨基酸、70 mM KOAc、1.7 mM ATP、0.6 mM GTP、0.6 mM CTP、6 mM UTP、20 mM CP 和 3.5 mM Mg(OAc)<sub>2</sub>。泳道 1: 萤火虫荧光素酶，MW 62 KDa；泳道 2: Monster Green® GFP，MW 28 KDa；泳道 3: 人源化的海肾荧光素酶，MW 36 KDa。

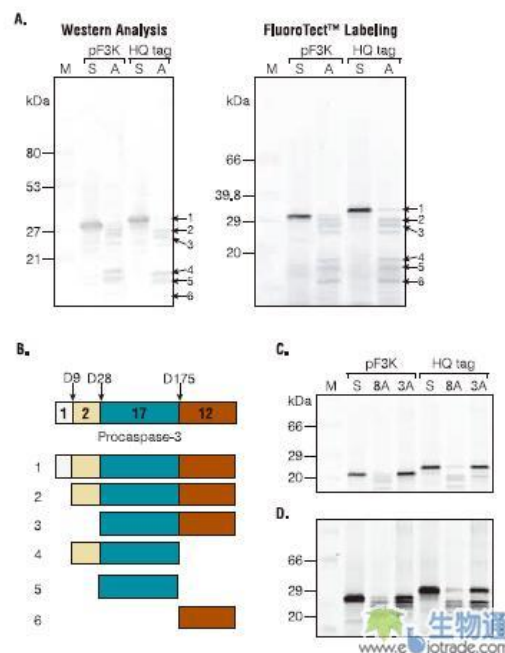


图 4. 使用 FluoroTect™ GreenLys 标记系统检测分批模式下处理的 procaspase-3 蛋白。

带或不带 N 端 HQ 标签的 Procaspase-3(pF3K WG(BYDV) Flexi®载体)经分批模式于体外合成，采用 FluoroTect™ GreenLys 系统进行标记。使用含有 100 U (1 μl) 的 caspase-8 或 caspase-3 (BioMol) 的裂解物 10μl 将 Procaspase-3 激活，37℃ 孵育 1 小时(图 A)。使用 1 μl 的 10 mM HEPES (pH 7.5) 处理细胞，取上清(S)做为假处理组，37℃ 孵育 1 小时。每个泳道相当于 1μl 最初反应体系所产生的蛋白量。图 A，通过荧光标记或 Western 分析，procaspase-3 的激活模式如图所示。泳道 S，未经 caspase-8 处理过的上清；泳道 A，经过 caspase-8 处理过的上清；"FluoroTect™ labeling" 图中的泳道 M，荧光分子量 Marker(Sigma)；"Western Analysis" 图中的泳道 M，ProSieve® 彩色蛋白 Marker(Cambrex)。图 B，显示位于 D9，D28(用于去除结构域前体)和 D175(用于初始激活)的假设的蛋白切割条带。横条中的数字为蛋白片断的分子量估计值(kDa)；p17 为位于 D28 和 D175 之间的蛋白片断；p12 为蛋白的 C 末端片断。图 C，凝胶图片显示，37℃

孵育 1 小时, procaspase-3 被 caspase- 8 充分消化 (泳道 8A), 而 procaspase-3 未被 caspase-3 充分消化(泳道 3A)。图 D, 如果将图 C 中的反应体系在 4℃再孵育 24 小时, 可观察到 procaspase-3 能够被其自身成熟形态的酶(泳道 3A)进行有限的自消化。图 C 和图 D 中的泳道 M, 荧光分子量 Marker (Sigma)。

Promega 无细胞表达 系统	模板				应用				产率 (带有对照的 50ul标准反应 体系)
	RNA	DNA	RBS	是否需要 Kozak 是否更优	转染分析	真核细胞蛋白分 析(如: pulldown, 免疫共沉淀)	原核细胞 蛋白分析	结构分析	
Rabbit Reticulocyte Lysate or Wheat Germ Extract Systems	Yes	No	—	Yes	Yes	Yes	No	No	RRL 50–200 ng, WGE 30–150 ng, WGE Plus 10–80 µg
TnT <sup>®</sup> Coupled Transcription/ Translation Systems	Yes	Yes	—	Yes	No	Yes	No	No	150–350 ng (取决于使用哪个系统)
TnT <sup>®</sup> SP6 High-Yield Protein Expression System	Yes	Yes	—	Yes	No	Yes	No	Yes	10–100 µg
S30 E. coli Protein Expression Systems	Yes	Yes	Yes	—	No	No	Yes	No	100–300 ng (取决于使用哪个系统)

表 1. Promega 无细胞表达系统比较表: 模板、应用及产率

## 总结

无细胞表达系统能够帮助你完成蛋白的快速表达, 产量足够用于下游实验。与细胞内表达相比, 这些系统对毒蛋白的敏感度低; 结合应用某些附加组分, 如微粒体膜, 可表达正确折叠的蛋白以及经过修饰的膜蛋白; 同时, 这些系统还可以在目的蛋白上掺入标记物或用于纯化的标签。Promega 公司的无细胞蛋白表达平台为您提供进行蛋白研究所需要的多种产品选择。

## 参考文献

1. Arduengo, M., Schenborn, E. and Hurst, R. (2007) The Role of Cell-Free Rabbit Reticulocyte Expression Systems in Functional Proteomics. In: Cell-Free Expression Kudlicki, W., Katzen, F. and Bennett, R., eds. Landis Bioscience, Austin, TX.
2. Brouette, C., Betz, N. and Kobs, G. (2002) Promega Notes 80, 10–3.
3. Zhao, K. et al . (2006) Promega Notes 94, 31–5

## Promega 无细胞表达系统的在线资源

选择最适合您的实验需求的无细胞表达系统, 如需更多帮助信息, 请访问位于 [www.promega.com/selector/tnt](http://www.promega.com/selector/tnt) 的 TNT® 产品选择器; 或位于 [www.promega.com/selectors/pulldown](http://www.promega.com/selectors/pulldown) 的蛋白相互作用选择器。

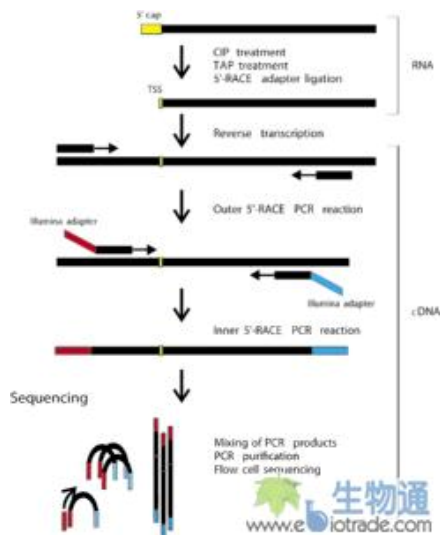
同时, 您还可以了解其它科学家是怎样将 Promega 无细胞蛋白表达系统用于他们的工作中的。请访问“引用文献数据库”[www.promega.com/citations/](http://www.promega.com/citations/) 使用产品目录号、产品名称或应用进行搜索。

[如需详细的产品列表, 请点击。](#)

# 高通量研究转录起始位点的新方法

日本横滨理化研究所（RIKEN Yokohama Institute）的研究人员最近开发出一种高通量方法，来研究目的基因的转录起始位点。他们将这种方法命名为 Deep-RACE（Deep-rapid amplification of cDNA ends）。借助于最新的测序技术，这种新方法能平行分析多个基因，并省却了耗时的克隆步骤。与常规的 RACE PCR 产物测序相比，它更为准确和经济。

一直以来，5'-RACE PCR 是特异扩增转录本 5'端的公认方法，用于转录起始位点（TSS）的作图以及对启动子元件的大致定位。通常，作图是将 5'-RACE PCR 产物克隆到细菌载体上，并通过传统的 Sanger 测序对一些克隆进行测序。然而，选择性剪接、可变启动子以及多个 TSS 的出现增加了转录分析的难度。为了让 5'-RACE PCR 分析能反映这种多样性，需要对相当大的区域进行测序。当需要同时分析多个转录本时，这项工作就变得复杂和耗时，当然也花费更多。为了解决这种缺陷，Signe Olivarius 和他的同事开发出一种简单的方法（流程如下图），能直接对 5'-RACE PCR 产物进行高通量测序，省却了耗时的克隆过程，并能对转录进行定量评估。



为了探索这种方法的可行性，他们在 Hep G2 细胞中选择了 17 个基因，并对 RNA 连接酶介导的 RACE 方法进行改进，以适于高通量的 5'端测序。通常，测序中有样品制备步骤，将测序接头连接在 DNA 片断的两端。为了省略这个步骤，他们在 inner PCR 的引物 5'端加上了 20 bp 的附加序

列，作为 Illumina Genome Analyzer 测序仪的接头序列。在巢式 PCR 之后，对 17 个基因进行了 inner 5'-RACE PCR 反应，随后进行纯化，将纯化产物置于单个通道中，进行高通量的测序。他们获得了 2,145,126 个序列读长，其中 1,280,189 能用于作图。研究人员用 Galaxy web service 来鉴定基因组间隔。访问量超过 500 的 TSS 被选择和聚类，并向 5'和 3'方向各延伸了 100 bp。这样产生了 26 个基因组间隔，用于过滤原始数据，并解救了访问量低于 500 的 TSS。其中 18 个间隔与目的基因座一致，而其他的与基因组的重复区一致。每个基因平均被 74000 多个序列覆盖，即使覆盖率最低的基因，也有 3195 个标签，表明这种方法最多能发现几百个不同的非重叠转录起始位点。

研究人员表明，5'-RACE PCR 与高通量测序结合的转录分析能大大增加序列数据的数量，同时节省相当多的时间和精力。将 RACE PCR 产物直接用于新一代测序，省却了繁琐的克隆步骤，同时引物的设计也替代了测序前的过夜连接。此方法简单易行，能同时对几百个基因的 TSS 进行平行分析。由于单次运行能获得几百万序列，当同时分析很多基因时，能对 TSS 位置和相对利用率进行非常可靠的评估。

这次用 Deep-RACE 仅仅对 17 个基因进行了测序，其费用与 Sanger 方法相当（仅就试剂而言，没有包括劳动力成本），说明高通量测序对于大规模的 TSS 研究是非常经济的。Deep-RACE 的结果也能用绘图工具如 Galaxy 轻松分析。因此，Deep-RACE 是对多个基因进行转录起始位点平行分析的理想工具。

（生物通 余亮）

# Invitrogen 让 Western 自动化

Invitrogen (现属于生命科技公司) 近日推出了 Western blotting 的新工具——BenchPro 4100 Western Processing Device, 它是一个台式工具, 能自动处理常规的洗涤和孵育。该装置实现了 Western blotting 的自动化, 简化了蛋白分析流程。

Western blotting 也称为免疫印迹, 是通过凝胶电泳检测样品中特定蛋白的实验室常规技术, 应用在生命科学领域的各方面, 包括抗体研究和信号通路。这项技术虽不复杂, 但耗时较长, 转膜后的洗涤和孵育要耗费 3 小时以上的时间。BenchPro 4100 Western Processing Device 的出现, 实现了这个过程的自动化。

这种新装置包含了两个部分: BenchPro 4100 Card Processing Station 和 BenchPro 4100 Western Card。Western blot 的膜置于卡片中, 并由卡片处理站进行自动处理。一次性的卡片杜绝了实验中的交叉污染, 并节省了洗涤等手头工作, 但保持了实验结果的质量。卡片处理工作站可以设定程序, 实现不同的 Western 操作步骤, 并能平行处理四个样品。

BenchPro 4100 装置的发明是受到 iBlot 干转仪的启发。iBlot 是一台高效的蛋白转印仪器, 能在 7 分钟的时间内让蛋白从聚丙烯酰胺胶转移到膜上, 而无需任何缓冲液。iBlot 仪器能简化蛋白转印的过程, 随后的处理则由 BenchPro 4100 来处理。

Invitrogen 分子生物学试剂市场开发部的主管 Evangeline Gonzalez 表示: “Western 分析是许多科研流程中的重要一环。BenchPro 4100 装置扩展了我们在蛋白表达分离和分析上的产品线, 让很多研究人员从冗长的手工劳动中解放出来。BenchPro 4100 和 iBlot 干转仪的结合节省了研究

人员的宝贵时间, 让操作失误最小化, 还增加了结果的一致性。”

Invitrogen 近年来也致力于小型仪器的开发, 陆续推出了 Qubit 定量仪, 用于 DNA、RNA 和蛋白的定量; iPrep 纯化仪, 用于 DNA 和 RNA 的纯化; 以及 Countess 自动的细胞计数仪。Invitrogen 和 ABI 共同组成了生命科技公司, 提供了分子和细胞生物学上最完整的解决方案。

关于 BenchPro 4100 Western Processing Device 的更多信息, 请访问 [www.invitrogen.com/benchpro4100](http://www.invitrogen.com/benchpro4100)。

## 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](http://www.lifetechnologies.com)。

(生物通 余亮)



# GE Healthcare 推出 ÄKTAready 液相色谱系统

通用电气医疗集团（GE Healthcare）最近推出了 ÄKTA™ready 液相色谱系统，专门设计用于药物开发 I 期到 III 期的流程扩展和生产，以及 GLP 和 cGMP 标准的全规模生产。系统操作的简化和产品批次之间停工期的缩短节省了启动时间以及人工及消耗品的花费，改善了成本效率和生产力。ÄKTAready 以即用型一次性流程进行操作，排除了交叉污染的风险，以及清洁和对清洁程序进行验证的需要。

ÄKTAready 包括色谱柱、UNICORN™软件以及含有传感器和检测流动室的 ReadyToProcess™Flow 试剂盒。UNICORN 带有安装向导，提供了色谱柱安装的操作指南和报告，确保试剂盒的正常工作。所有的 ÄKTA 系统使用了相同的软件，能够轻松实现流程的扩展和完整 cGMP 生产中 ÄKTAprocess 的快速转换。

ÄKTAready 系统由大量的产品监控文档和服务提供支持，具体包括验证文档、有关使用材料信息的产品文档、美国药典第六类 CFR 177 和 AOF 证书，以及监控支持文件（RSF）。

ÄKTAready 是通用电气医疗集团 ReadyToProcess™整体解决方案中的一部分，此方案能协助提高生物制药的生产效率。ReadyToProcess 通过消除上游及下游处理的日常工作中的浪费行为，实现精益生产。产品包括 WAVE 生物反应器、WAVE 混匀器，和一次性的 CellBag™，色谱柱以及普通的流动盖和 ReadyMate™一次性的无菌连接管。ReadyToProcess 产品线提供了最大的灵活性，简化并加速了生物处理，专为从发酵到纯化的升级和顺利操作而设计。



# Promega 推出两种核酸纯化新品来应对复杂样品

针对复杂样品, Promega 公司近日推出两种新的 Maxwell 16 核酸纯化系统, 分别为: Maxwell® 16 Cell Low Elution Volume (LEV) DNA Purification Kit 和 Maxwell® 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification Kit。

新的 Maxwell 16 系统为临床和科研实验室提供了全自动 DNA 纯化的新工具, 让某些复杂样品的纯化更为简单。

Maxwell 16 Cell LEV DNA Purification Kit 能从细胞数量低的样品如羊水、脑脊液和细胞培养上清中自动提取基因组 DNA, 适用于分子毒理学、产前遗传检测、遗传筛查和基因分型。只需 30 分钟, 就能从 10-10000 个细胞中轻松获取基因组 DNA。

Maxwell 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification Kit 提供了简便的方法, 从甲醛固定石蜡包埋 (FFPE) 的组织切片中有效地纯化基因组 DNA。该试剂盒能从 1-10 个 FFPE 组织样品中自动纯化 DNA, 且不需要脱蜡或使用有害的有机溶剂如二甲苯, 与传统的手工方法相比更安全。

自动化避免了污染和手动纯化中的不稳定因素。与所有的 Maxwell 产品相同, 这些新产品中也包括了优化过的纯化步骤。有了这些新产品,

Maxwell 16 系统成为核酸纯化中速度、纯度和产量的最佳组合。

更多关于 Maxwell 的信息, 请访问:

[www.promega.com/maxwell16/maxwell16LEV.htm](http://www.promega.com/maxwell16/maxwell16LEV.htm)。

## 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 种产品让全世界的科学家能够在基因组学、蛋白质组学、细胞分析、分子诊断和人类发现等方面不断提升他们的学识。该公司 1978 年成立于美国威斯康星州的麦迪逊, 目前在 14 个国家设有办事处, 并拥有超过 50 个全球经销商。请访问 [www.promega.com](http://www.promega.com) 来获取更多信息。

(生物通 余亮)

[我想进一步了解这些试剂盒](#)

# 利用 Biacore A100 以多蛋白组方式进行基于选择性的化合物筛选

## 提高药物开发中化合物筛选的效率

- 根据选择性结合来筛选化合物
- 无标记、实时筛选虚拟活性化合物 (virtual hits) 和片段文库化合物

## • 利用蛋白质阵列对复杂的蛋白靶点进行快速、高信息量的化合物分析

- 每天的处理速度相当于 3800 个相互作用
- 与 HTS 分析相比蛋白靶点的消耗量低

## • 可从蛋白质集合(Panels)的平行分析获得独特的化合物筛选标准

- 可同时分析与野生型和突变型蛋白靶点的结合特性、以及与特定靶点蛋白亚基和对照蛋白的结合特性
- 可鉴别出高度选择性结合特定靶点的化合物
- 可最终鉴定出非特异性的蛋白结合物

## • 更快速、信息更丰富的化合物筛选，最大程度降低靶点相关的假象风险

## • 可实现项目中过去 HTS 无法进行的重要进程

- 可在生物分析中验证具激动剂活性的化合物

## 简介

目前的高通量筛选 (HTS) 方式利用低分子量 (LMW) 化合物的大文库，通过设计反映化合物与治疗目标蛋白之间的亲和力的抑制性分析来进行筛选。这些分析检测根据阴性结果来检测 hits

(活性化合物)，很容易产生的假阳性结果。例如，化合物可能直接干扰标记系统，或通过非特异的蛋白结合来发生反应。因此，通过高通量筛选分析鉴定出的大部分 hits 都证实是假阳性，而不能选择性地与目标结合位点结合。

利用结构信息进行虚拟筛选和设计定向文库有助于改善筛选过程。那些可在筛选早期提供全面、高质量的结合和选择性数据的筛选方法将大大提高筛选效率。

“Biacore A100 的多重目标蛋白集合分析方式是研究复杂药物靶点的极佳途径。这些分析提高了发现生物活性分子的机会，因为所得的信息给出了结合模式的清晰图像。”

——瑞士巴塞尔罗氏公司的 Walter Huber 博士



图 1. Biacore A100 为选择性化合物筛选提供无需标记的相互作用分析方法

无标记的相互作用分析系统在药物筛选过程中的应用日益增多，它的选择标准是基于化合物-

靶蛋白的直接结合特性。此类分析的优势包括独特而高分辨率的结合数据为相互作用提供了动态描述，靶蛋白的消耗量小，并且包含对照蛋白用于结合的特异性分析。Biacore™ A100 以足够大的运行通量提供高质量的相互作用数据，可满足定向化合物筛选应用中的需求。Biacore™ A100 的优势不仅仅在于可处理的化合物数量，这个相互作用分析系统还能够平行分析化合物与一组蛋白的相互作用。实际操作上，在标准的 LMW 应用中可针对多达 16 种蛋白（考虑到空白的对照孔）进行分析。这为更高效的化合物筛选开创了新的可能性，利用蛋白集合的方式提供了全面的选择性数据，改善了用于下一步开发的化合物质量。

### Biacore A100：聚焦样品或靶点的分析形式

分析系统中共有四个平行、独立的流动池，每一个池可固定多达 5 种不同蛋白（或其他类型的生物分子）。对于需要最大样品通量的分析而言，在四个流动池中能固定相同的蛋白靶点，这样每个分析循环能平行分析 4 种不同的样品（图 3）。如果有些分析需要优先考虑样品的信息量，则可选在四个流动池中固定多达 20 种不同的靶点，在每个循环中将 1 个样品平行注入到所有的流动池中（图 6）。

### 致谢

我们非常感谢罗氏公司（瑞士巴塞尔）提供化合物和蛋白，并对 Walter Huber 博士在这次合作中的宝贵贡献表示感谢。

### 研究目的

在与罗氏公司（瑞士巴塞尔）的合作研究中，采用 Biacore A100 从一个药物筛选计划的 1280 种化合物中筛选能靶定一个在生物医学上具有重要价值的复杂的异三聚体蛋白（名称保密，暂以 HTP 代替）的化合物。罗氏的计划旨在开发能与该寡聚蛋白 c 亚基上的别构位点结合并增加蛋白活性的正协同效应（激动剂活性）化合物。这个目

标很复杂，因为已知 C 亚基别构位点也能够与 HTP a 亚基上的活性位点相关的同类天然配体结合，这就产生了选择性的问题。由于缺乏单纯的 c 亚基蛋白，所以筛选方式必须分两步进行（图 2 概述）。第一步是利用阵列系统分别针对全长 HTP 和 a 亚基靶点将所有 1280 种化合物全都筛选一轮，排除那些倾向于结合 a 亚基而非全长 HTP 的化合物。

[点击索取Biacore A100 的更详细资料](#)

然后用一组七个不同的蛋白对上一轮中有希望选择性的化合物进行平行筛选，从而获得化合物高效筛选所需的全面选择性图谱。

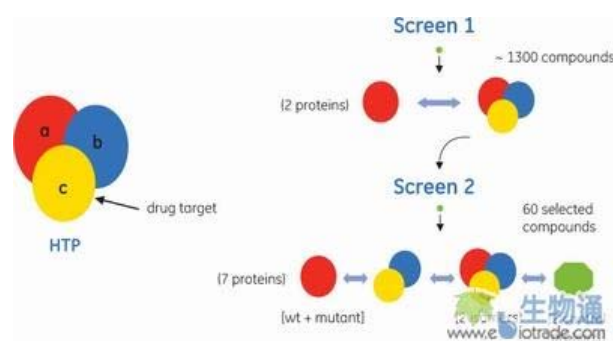


图 2. HTP 靶点的亚基组成和两步法筛选策略示意图。

### 结论

用全长和 a 亚基 HTP 蛋白对 1280 种化合物进行快速的样品核心筛选（第 1 轮筛选）

利用全长的 HTP (HTP111) 和 a 亚基 (HTPa2) 靶点对所有 1280 种化合物进行以最高样品通量为核心的筛选分析。蛋白靶点均固定在每个流动池中，这样每个分析循环能平行分析四种化合物。部分化合物来自针对 HTP c 亚基的功能结合位点的定向虚拟筛选文库（总数为 1160 个，分子量范围 ~200-800 Da），有些则来自极性分子的片段文库（总数为 320 个，分子量范围 ~100-400 Da）。基本的分析设置请看图 3。

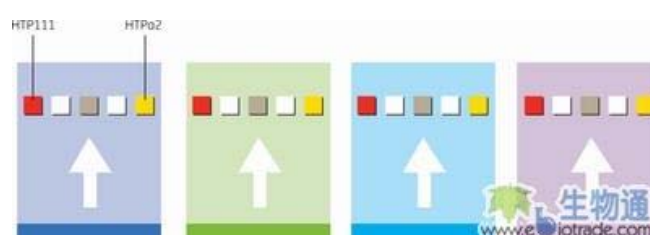


图 3. 第一轮筛选的设置。专注于样品的分析筛选出选择性结合全长 HTP 而非  $\alpha$  亚基的化合物。

在每次 8 小时的运行中，利用 384 孔板总共可筛选 240 种化合物，另外加上适当的对照样品和溶剂校正溶液（最大载量是在单次 20 小时的运行内筛选约 1000 种化合物）。每一个化合物与靶目标之间的相互作用得到实时监测，由此产生结合反应（通过表面等离子共振 SPR 来检测）对时间的曲线，称为感应图（详见最后的监测相互反应信息框）。筛选中产生的大量数据由 Biacore A100 评估软件的自动质量控制（QC）功能来辅助分析，它能鉴别并排除质量差的感应图，从而排除偶然的实验误差。图 4 展示了每次运行中四处注入对照样品的感应图。

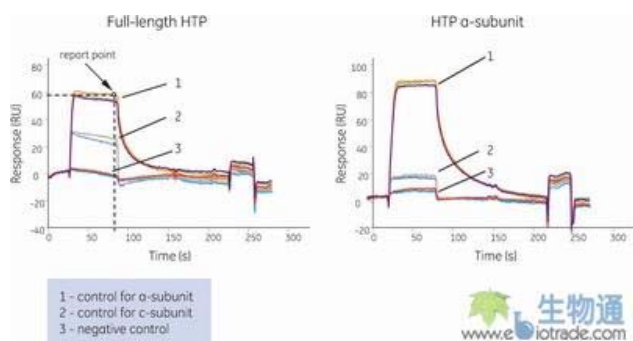


图 4. 第一轮筛选中的阳性和阴性对照的感应图。每次运行中 4 组对照与两个固定靶点的反应分别显示。挑选出用于数据验证的报告点数值恰好在解离期开始之前，如图中箭头所示。

### 化合物的筛选

每种化合物与两种靶点的结合水平通过离散图进行比较（图 5）。这样能鉴定出选择性结合全长 HTP 而非  $\alpha$  亚基的结合物，得到 60 种化合物进行第二轮筛选中更全面的蛋白集合分析。为了让第二轮筛选包含更宽范围的结合数据，还挑选了一些非选择性的化合物进入第二轮筛选。

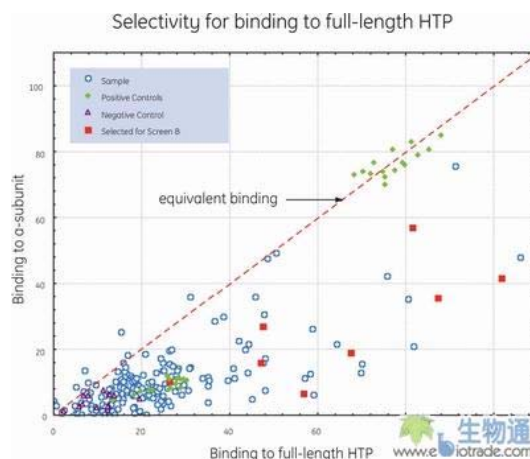


图 5. 用全盘筛选对化合物进行选择（结果显示一次运行中的 240 种化合物）。与两种靶点的晚解离期结合水平的离散图。

化合物选择性的综合分析：用 7 个蛋白对 60 种化合物进行靶点核心筛选

第 2 轮筛选采用以靶点为核心的分析方式，利用 7 个不同蛋白靶点对 60 种化合物进行结合选择性的综合分析。在这项设置中，每个循环中将一种化合物平行注入四个流动室中，可同时测量与所有固定靶点的结合反应（图 6）。

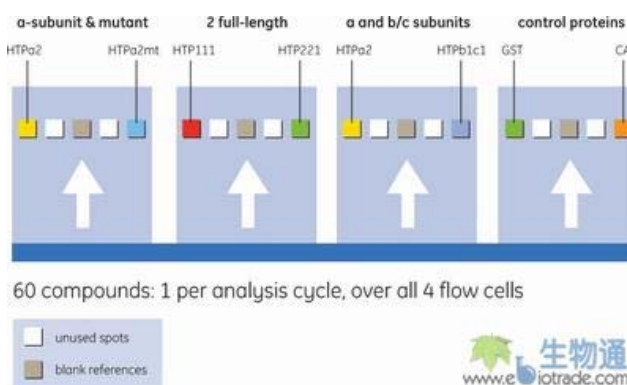


图 6. 第二轮筛选的设置。蛋白的详细描述请看表 1。注意  $\alpha$  亚基靶点 HTPa2 固定在两个位置上。

选择 7 种蛋白是为了全方位地鉴定出带指定的结合选择性的化合物，同时降低靶点依赖的假阳性或者假阴性，并最终识别出非特异性蛋白结合。 $\alpha$  亚基靶点（HTPa2）被固定在两个流动室中，与另外两种靶点（ $\alpha$  亚基突变体和 b/c 亚基蛋白）做有参考价值的匹配比较，同时可作为一个内在重复



性的内参。关于这些蛋白的详细信息请参看表 1。

蛋白	描述	注释
HTP111	全长三聚 (a1b1c1) 异构体-	
HTP221	全长三聚 (a2b2c2) 异构体-	与HTP111相比糖基化显著
HTPa2	a亚基单体	
HTPa2mt	突变的a亚基	已知功能位点的三处突变
HTPb1c1	b/c-亚基二聚体	
GST	谷胱甘肽硫转移酶 (非特异性结合的对	重组蛋白中常用的标
CA	碳酸酐酶 (非特异性结合的对	与HTP无关的药物靶点蛋白

60 种化合物连同对照样品在 96 孔板上进行筛选。在考虑选择性结果的细节之前，可从第二轮筛选中获得一系列基本观察结果。

- 对照化合物与 HTP 来源蛋白的结合性符合预期模式
- 对照和样品与两种对照蛋白 CA 和 GST 的结合程度很低
- 双重固定在两个不同流动池中 HTPa2 a 亚基靶点在所有检测中得到的结果具有高度一致性，因此所有 HTPa2 结果都取数值的平均值

### 从第一轮筛选中选择出的化合物表现出预期的蛋白选择性

比较化合物与 HTP111 和 HTPa2 靶点的结合结果，证实了大部分化合物选择性结合全长 HTP 而非 a 亚基，尽管它们在选择性程度上差异显著（图 7，中间图）。这种表现与分析全部结果时基本上一致，也就是说选择性结合原始全长 HTP111 蛋白的化合物也同样表现出对全长异构体和 b/c 亚基蛋白相似的偏向性（图 7 小图）。

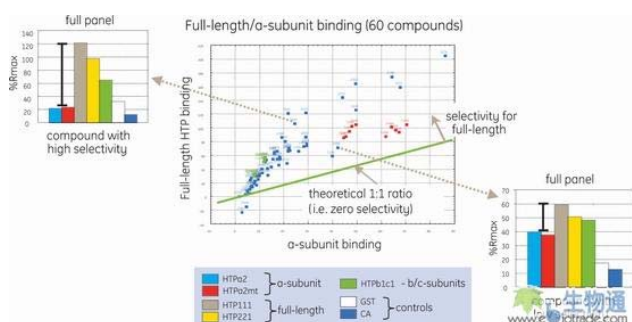


图 7. 化合物选择性示意图。小图片显示了有着不同选择性的两种特定的化合物与 7 种固定蛋白的结合模式（%Rmax=每种蛋白的反应与理论上最大结合反应的百分比）。

### 蛋白结合反应的配对比较提供化合物特性的独特信息

特定靶点间内涵丰富的配对比较为总体的靶点依赖性质提供了绝佳概述，能鉴定出表现异常行为的特定分子。利用常规的单靶点鉴定策略就无法实现这些观察。图 8 展示了配对靶点比较的例子，以及由此可得出的结论。

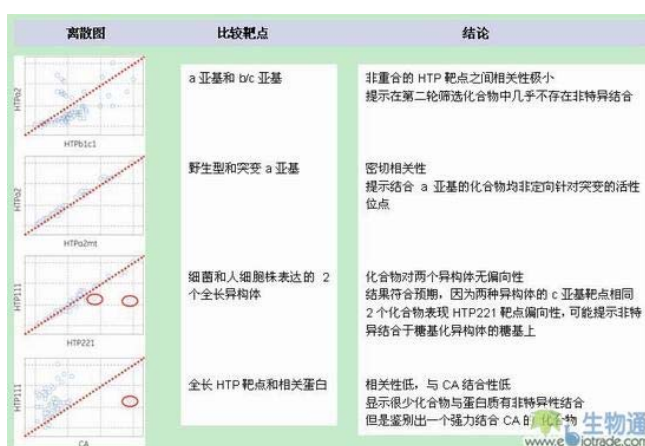


图 8. 离散图显示了所有 60 种化合物与蛋白组中靶点的不同配对组合的相对结合水平（%Rmax）。红色的虚线显示了理论上的 1: 1（非选择性）结合水平。红圈中的数据点突出了用于评论或总结的特定化合物。

### 与靶点更高的亲和性并不意味着更好的结合选择性

采用多种蛋白集合筛选方法的动机之一是鉴定出高选择性结合的化合物可能比筛选高靶点亲和力的分子更加重要。因此需要研究这些性质之间的关系。当选择性（由 HTP111: HTPa2 结合反应的比例来定义）直接与单纯的 HTP111 结合水平进行比较（图 9），很显然这些性质并没有表现出显著的正相关。因此，列入选择性高、中、低组的化合物与全长靶点的结合水平都有高有低。这些结果



暗示基于单靶点结合的筛选分析对于鉴定高选择性的化合物来说并不是最优的。

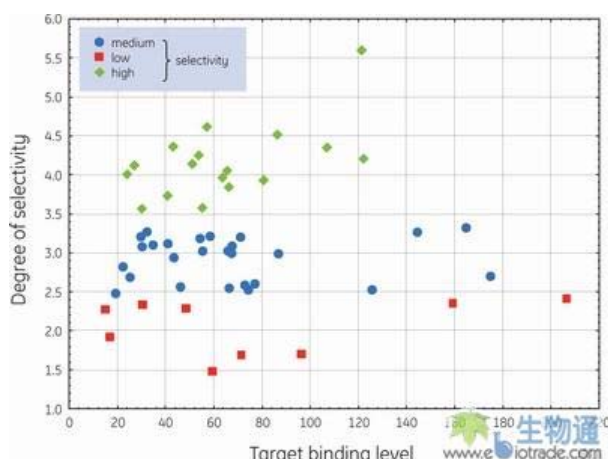


图 9. 与全长 HTP 靶点有高亲和力，与高度选择性结合全长靶点（全长对 a 亚基）之间不存在相关性

### 组合靶点评估: 多靶点为化合物选择提供了独特的标准

综合的选择性分析显然比配对的靶点比较更具启发性。例如，有人可能会提出全盘筛选有些多余，因为全长对 a 亚基以及 b/c 亚基对 a 亚基的选择性比较应该产生一致的结果。然而，当进行这项比较时，很显然化合物行为更为复杂，而两种 HTP 来源的靶点都是获得结合选择性的综合图像所必需的（图 10）。

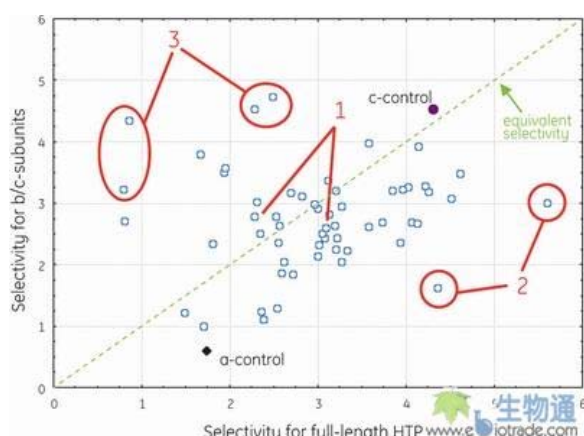


图 10. 60 种化合物的选择性组合分析。以 a 亚基的结合作为参考，与均等选择性对角线的距离增加表明对 b/c 亚基（线上）或全长 HTP（线下）的选择性程度更高。请看文本中关于 1-3 化合物组的讨论。

关于 b/c 亚基（HTPb1c1/HTPa2 反应）选择性对全长蛋白（HTP111/HTPa2 反应）选择性的分析图表明，尽管许多化合物在象征选择性相等的对角线附近，但也有些化合物显示出对全长蛋白或 b/c 亚基的截然不同的倾向性。

图 10 显示了三组化合物有着完全不同的组合选择性特征：

1. 大多数位于对角线附近说明化合物预期选择性地结合 HTP 的 c 亚基，也就是说，与 a 亚基相比，对全长和 b/c 亚基靶点的选择性相同。

2. 一些化合物显示出了与全长 HTP 更强的选择性（相比 b/c 亚基靶点），提示完整的靶点是最佳结合所必需的。只针对亚基特异性靶点的筛选可能会存在丢失这些潜在的候选药物的风险。

另一些化合物对 b/c 亚基表现出了强的选择性，而与全长 HTP 只有很少或没有选择性。这可能反映出 b/c 亚基上的结合位点在完整的治疗靶点上难以接近。不够全面的筛选将可能鉴定出一些结合性好，但对生物学上的药物靶点没有作用的化合物。

综上所述，这些结果表明针对复杂的治疗靶点进行的高选择性化合物鉴定可能需要综合的集合分析方式，以便排除潜在的靶依赖假象导致的假阳性或假阴性。此外，应用多个对照靶点来鉴定非特异的蛋白结合、与重组蛋白标签的结合，以及可能的表达系统假象，能够应用到几乎所有药物筛选计划中。

利用 Biacore A100 产生的选择性数据，罗氏制药进行了内部的验证性分析，并将一些最有希望的化合物用于生物及细胞的分析。这些分析的初步结果鉴定出几个具正协同性的（激动剂活性）化合物，表明 Biacore A100 的高质量结合数据能让药物筛选更有效，最大程度提高了发现生物活性化合物的机会。

## 总结

- 独特的平行处理能力和灵活性让 **Biacore A100** 成为挑选能与复杂的蛋白靶点选择性结合的化合物的有力工具
- 强调样品通量的分析在基本选择标准前提下可实现 **1300** 种化合物的快速筛选
- 靶点核心分析可利用扩展的蛋白靶点集合，为鉴定最佳候选者提供全面的选择性信息
- 由多种蛋白集合平行分析获得的独特信息内容，实现了更快、信息更全面的化合物筛选，从而提高了药物开发中的成功几率

## 参考文献

Huber, W. A new strategy for improved secondary screening and lead optimization using high-resolution SPR characterization of compoundtarget interactions. J. Mol. Recognit. 18, 273-281 (2005)

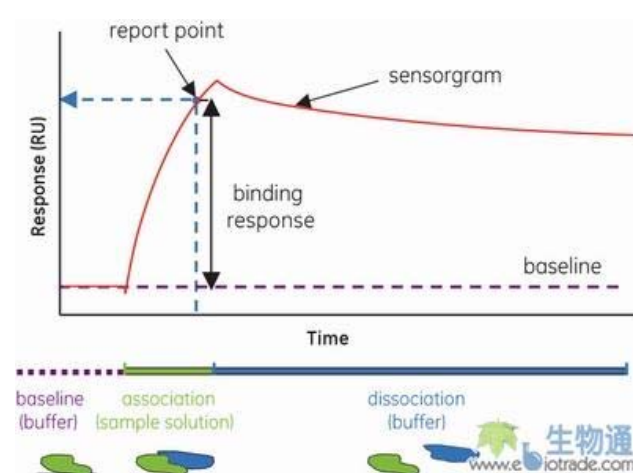
更多关于无标记相互作用分析的信息请访问：

[www.biacore.com](http://www.biacore.com)。

## 方法

分析在 **Biacore A100** 样机上运行。HTP 蛋白和所有化合物由罗氏公司（巴塞尔）提供。蛋白通过标准的胺偶联固定在羧甲基传感器芯片上（**S** 系列传感器芯片 **CM5**）。

**Biacore** 系统以无标记的检测方式来实时监测分子间的相互作用。相互作用的其中一个作用分子固定在传感器表面，而另一个注入溶液中，流经传感器表面。当注入样品中的分子与固定分子结合，会使传感器表面产生折射率的改变，与质量浓度的变化成正比。利用表面等离子共振（**SPR**）的现象实时检测这些变化，并以感应图（**SPR** 反应对时间作图）的形式显示数据。感应图展示了化合物形成和解离的全过程，而结合曲线的形状揭示了其动力学结合和解离速率。



感应图通过共振单元（**RU**）测量的结合反应，提供了整个相互作用的实时信息。相互作用过程中特定时间的结合反应也能选择作为报告点。

（翻译：生物通 余亮；校对：吴青）

# Millipore 以 2260 万美元收购 Guava

Millipore 公司近日宣布，它已就收购 Guava 技术公司（以下简称 Guava）达成协议。根据协议的条款，Millipore 将以 2260 万美元收购 Guava。Guava 在 2008 年的销售额约为 2200 万美元。这次收购有望在 2 个星期内结束。在去年 3 月，两家公司曾签订了销售和共同开发的合作协议。

Millipore 的 CEO Martin Madaus 表示：“这次对 Guava 的收购代表了我们生命科学部的又一次转变。在过去的三年间，Millipore 已经成为生命科学中的领先者，通过不断扩宽产品线，让客户更有效地工作。在收购 Guava 后，我们将 Guava 的仪器和我们一系列充分验证的试剂盒结合起来，为细胞生物学家提供了强大的流式细胞仪平台。”

流式细胞术是强有力的研究技术，科学家可用此来测量单细胞中的蛋白表达水平的变化。Millipore 和 Guava 正在就仪器、试剂盒、验证的步骤以及技术支持进行整合，来为细胞生物学家提供流式细胞术的完整解决方案。因此，细胞生物学的研究人员能受益于这种强大的分析平台，在小型实验室中完成细胞分析。

Guava 开发了市场上第一台微毛细管的流式细胞仪系统，让科学家们能在台式的小型仪器上完成流式细胞实验。微毛细管的流式细胞仪与传统的流式细胞仪相比，容纳的样品体积更小，浪

费也更少，不但降低了操作成本，还简化了设置和运行。

Guava 在科研、制药和生物技术市场上有着重要的客户基础。Guava 的技术将用于开发 Millipore 生物处理部门中过程监控工具的新产品。该公司预计会保留 Guava 位于美国加州 Hayward 的制造和商业运作。

## 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](http://www.millipore.com)。

(生物通 余亮)

# Proemga 和 Celsis In Vitro Technologies 携手推出更为可靠的原代肝细胞 ADME/Tox 检测解决方案

Madison, WI USA. (2009 年 2 月 9 日), Promega 公司与位于马里兰州巴尔的摩市的 Celsis In Vitro Technologies (Celsis IVT) 将在原代肝细胞内进行 ADME/Tox 的试验和推测工作。Promega 将与 Celsis 共同运作市场, 使 Promega 基于生物发光方法的 ADME/Tox 检测试剂盒与 Celsis 拥有的多种高品质的低温冻存肝细胞联手。依照双方协议, Celsis 将提供合格批次的低温冻存肝细胞, 结合 Promega 特定的 P450-Glo CYP 检测试剂盒, 用于研究细胞色素 P450 基因的诱导及抑制。此外, Celsis 还将确证合格批次的低温冻存肝细胞, 结合 Promega 的 GSH-Glo 谷胱甘肽检测试剂盒, 用于研究肝细胞毒性的发生机制。

“将我们的经过确证的生物组分与 Promega 的超灵敏、宽动态范围的发光检测技术相结合, 会使广大科学家充分受益。”Celsis IVT 的副总裁兼总经理 Philip M. Vorwald 说, “我们的研究结果已经证实: 将此二者结合的方法用于甄别新化合物的不良反应, 提高了实验预测的真实程度和准确程度。而且, 比传统的研究方法明显地变快了。”

确认某一特定批次的肝细胞是否能够适合某一实验是需要花费很长时间和很多经费的。许多这样的努力都陷于不断的试验和错误。即便是找到了合适批次的肝细胞, 现有的用于检测基因表达、酶活性或代谢产物的 LC/MC 技术也难以被广泛应用, 它们或是十分昂贵、或是需要长达几天的孵育来处理样品。Promega 和 Celsis IVT 的合作将使科学家们快速而简便地选择来自两家公司的、经过确证能够彼此兼容的产品, 科学家们将会节约宝贵的时间和资源, 提高效率, 领导更快速发现安全药物的潮流。

“从事二级筛选的研究人员尤其需要 ADME/Tox 检测解决方案, 他们希望这些解决方案不仅经过确证, 而且要更加具有预见性。”Promega 市场营销副总裁 Andy Bertera 谈到。“我们的 ADME/Tox 检测试剂均经过预先确证, 能够与

Celsis IVT 公司的全线低温冻存肝细胞共同使用。这种结合能够给科学家带来使用上便利和优质的结果。这永远是 Promega 追求的目标。这一合作将会使 ADME 检测摆脱纯粹的猜测, 而是基于实实在在的原代肝细胞。”

目前, 这两家公司正在科学讲座和发表文章方面联手合作, 旨在展示这些经过确证的、用于 ADME/Tox 研究的实验结果。

## 关于 Promega 公司

普洛麦格公司在为生命科学领域提供创新的解决方案和技术支持方面处于领先地位。公司的 2000 余种产品使全世界的科学家加强了在基因组学、蛋白质组学、细胞分析、分子诊断和遗传鉴定等方面的知识。公司成立于 1978 年, 总部坐落在美国威斯康辛州的麦迪逊市, 在 14 个国家设有分公司, 拥有超过 50 家全球性的经销商。关于普洛麦格公司的详细信息请访问[www.promega.com](http://www.promega.com)。

## 关于 Celsis In Vitro Technologies

Celsis In Vitro Technologies (Celsis IVT) 向制药公司和生物技术行业提供体外检测产品, 用于药物发现早期的药物化合物筛选过程, 帮助这些公司节约药物发现所花费的时间和经费。Celsis

International plc是一国际领先企业，向制药公司和生物技术行业提供创新性的生命科学研究产品和实验室服务项目，Celsis IVT为该公司的三个分部之一。该公司在伦敦股票交易所上市（CEL.L）。请访问[www.celsis.com](http://www.celsis.com)获得更多信息。

#### Contacts

#### Promega

Penny Patterson

Director, Corporate Affairs

Tel: +1 608 274 4330

E-mail: [penny.patterson@promega.com](mailto:penny.patterson@promega.com)

Celsis In Vitro Technologies

Cindy Lieberman

VP, Communications

Tel: +1 312 476 1200

E-mail: [clieberman@celsis.com](mailto:clieberman@celsis.com)