

# EBIOTECH

生物通技术周刊

第63期

2009年6月5日

全文下载

## 【技术前沿】

如何捕获人的甲基化组？

新型原代细胞转染试剂

纳升级分液利器—mosquito?自动液体工作站

## 【新品速递】

25分钟完成Western检测?!

Sigma全新推出高质量活性激酶

通用电气推出?KTAmicro液相色谱系统

Amnis发布新的ImageStreamX图像流式细胞仪

Promega公司推出GloMax?-Multi+多功能检测仪

罗氏最新推出可检测甲型H1N1流感病毒的完整试剂盒

全新MagNA Pure LC总核酸分离试剂盒-High Performance

## 【应用指南】

使用Rox?的好处 —确保您获得均一的定量PCR实验结果

## 【行业动态】

HaloTag?技术助力Evotec筛选25万种化合物

生命科技公司 (Life Technologies) 倾力支持各大实验室对抗猪流感之战

# 如何捕获人的甲基化组？

DNA 分子不仅仅是由核苷酸序列定义的，表观遗传学的修饰也起了至关重要的作用。这些甲基胞嘧啶，常常被称为第五种碱基，对于正常的发育很关键，异常的甲基胞嘧啶往往是许多疾病的特征。

为了定量测定人基因组中的甲基化，两个独立的研究小组，分别为哈佛大学的 George Church 等，以及加州大学的 Kun Zhang 连同弗吉尼亚联邦大学的 Yuan Gao 等，将传统的甲基化工具如 DNA 的重亚硫酸盐转化与近期开发的目标基因组捕获技术和高通量测序相结合。

两个小组都利用了锁式探针 (padlock probe) 来富集基因组的选定部分。这些线性的寡核苷酸探针经过专门设计，每一端都与目标基因组的一侧杂交，DNA 聚合酶随后在捕获区域延伸，经过最后的连接步骤，扩增得到环状的 DNA 并测序。

之前，Church 和他的同事 Jay Shendure 已经利用锁式探针来捕获外显子；尽管这些探针是目标区域高度特异的，但它们仍表现出等位基因偏向性高和重复性差。Shendure 的小组现在已经解决了这些问题，但利用重亚硫酸盐 DNA 的锁式探针还面临着另一个挑战：在重亚硫酸盐转化时，所有的甲基胞嘧啶转化成尿嘧啶，随后变成胸腺嘧啶，从而降低了序列的复杂度，但设计特异的探针变得更加困难。Zhang 的小组与 Church 的小组都优化了捕获步骤，包括探针设计。

为了得到甲基化组 (methylome) 的整体图谱，Church 及同事们将探针靶定在选定的基因组区域，而不管该区域是否富集 CpG 二核苷酸，并用一种甲基化敏感的酶进行消化，随后用基因组范围的切割计数来补充目标富集。在对成纤维细胞和诱导多能干细胞 (iPSC) 等几种细胞系进行分析后，他们发现基因表达与启动子区域的甲基化关联呈阴性，而与基因本身的甲基化呈阳性相关。Church 确信这是生物学高度相关的。为了进一步证实这个假说，Church 小组正在用高通量的方法对等位基因特异的甲基化进行研究。

相比之下，Zhang 和 Gao 的小组主要聚焦于 CpG 岛上，部分原因是这些区域是高度甲基化的，且它们定义清楚，能呈现出稳定的目标组。他们比较了 iPSC 和人胚胎干细胞 (hESC) 两种染色体的所有 CpG 岛的甲基化模式。出乎意料的是，研究人员发现只有 10% 的区域在甲基化上表现出差异。对于 Zhang 来说，这种方法比基因组范围的测序更具优势。他认为全甲基化组测序并不经济，因为 90% 的数据都不能带来太多信息。

与 Church 小组的结果一致，Zhang 和同事们发现在高度表达的基因中，启动子甲基化降低，而基因本身甲基化升高。此外，他们还发现了 iPSC 与 hESC 的甲基化模式差异。iPSC 倾向于更多甲基化，这可能与再分化相关。为了更详细地评估这种差异，Zhang 计划了解“干净”iPSC 的甲基化状态，也就是无诱导因子、中间体以及完全分化产物的细胞。

有了这些技术，第五种碱基的作用正变得更加突出。

## 参考文献

Ball, M.P. et al. Targeted and genome-scale strategies reveal gene-body methylation signatures in human cells. *Nat. Biotechnol.* 27, 361–368 (2009).

Deng, J. et al. Targeted bisulfite sequencing reveals changes in DNA methylation associated with nuclear reprogramming. *Nat. Biotechnol.* 27, 353–360 (2009)

## 相关阅读

[CpG岛甲基化图谱分析的三种优化流程](#)

# 新型原代细胞转染试剂

## 简介

人们尝试过很多方法将质粒 DNA 导入细胞，常用的有 DEAE 右旋糖苷，磷酸钙沉淀，脂质体，显微注射和电击等物理方法。现有的转染技术都或多或少的有各种不足，其中转染效率低，细胞毒性高是研究者最常遇到的困扰；而许多细胞系，特别是原代细胞是很难获得理想的转染效果的。现有的转染试剂产品在实际应用中还有一个普遍的问题，就是不太可能采用单一一种试剂在各种细胞上都获得较高转染效率；因此研究者不得不尝试很多种类的转染试剂而获得特定细胞的最佳转染效果。如果某种转染试剂盒可以在各种细胞——包括哪些“抗拒转染”的细胞——的转染实验中都能获得好结果，对于广大研究者来说将是一个福音。

为了达到研究者的这种期望，默克 Novagen 经验丰富的研究团队开发了 NanoJuice™ 转染试剂盒，其两种组分互相促进，可以提高各种哺乳动物细胞的转染效果。采用最新的纳米科学技术 Priostar® dendrimers（树枝状聚合物）和多价阳离子脂质体的特别设计，NanoJuice 转染试剂混合物可以确保获得卓越的转染效率而细胞毒性极低。这种新的转染方法会帮助研究者在原代细胞和那些“顽固抵抗转染”的细胞上轻易获得成功。NanoJuice 试剂盒中的两种试剂经过调节配比，很方便为不同的细胞设定最佳转染效果的使用方法。有了 NanoJuice 转染试剂盒就再也不需要不断地为每一种细胞从头摸索不同转染方法或尝试各种产品了。我们建议您采用预试验为特定的细胞找到最佳试剂用量，通常这个小试可以在 24 孔板中进行；一旦最优化的转染试剂用量确定了，后续的操作可以在此基础上非常方便地用等比缩放来轻松获得稳定的高效转染。

## 确定最佳转染条件预实验

我们在一些原代细胞和其它较难转染的细胞上做了预试验，以便摸索试剂的最佳用量和配比。每个试验设定 6 种条件，包括每 ug DNA 采用 2 种不同用量的 NanoJuice 核心转染试剂和 4 种不同用量的转染增强试剂（图 1）。通常，NanoJuice

的最适使用量范围是：核心转染试剂 1-2ul / ug DNA，转染增强试剂 1-4ul / ug DNA。预试验结果显示，每种细胞的最佳转染效果采用的两种转染试剂成分的比例可能差别甚大（图 2）。我们的尝试表明每一种细胞均需设置预试验以获得最优化的实验条件，同时这些数据也证明了 NanoJuice™ 转染试剂盒是一种多功能转染工具，可以作为各种细胞高效转染的首选。不断在各种细胞上尝试 NanoJuice 转染试剂盒发现其两种试剂成分的用量可以根据不同细胞的实际情况有更大幅度的调整。例如：Caco-2 细胞的预试验中，NanoJuice 核心转染试剂和转染增强试剂都是 1ul / ug DNA。而进一步的尝试发现两种试剂的用量可以更低一些，分别为 1ul 和 0.75ul，而转染效率有小幅提高（图 3）。

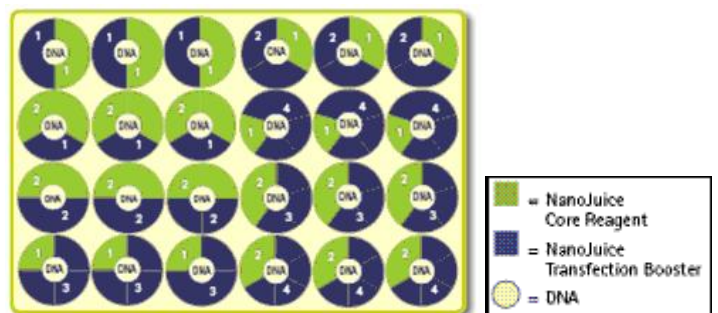


图 1 确定最佳转染条件的预实验，尝试 8 种转染核心试剂与转染增强试剂的不同配比，每种做 3 个重复。

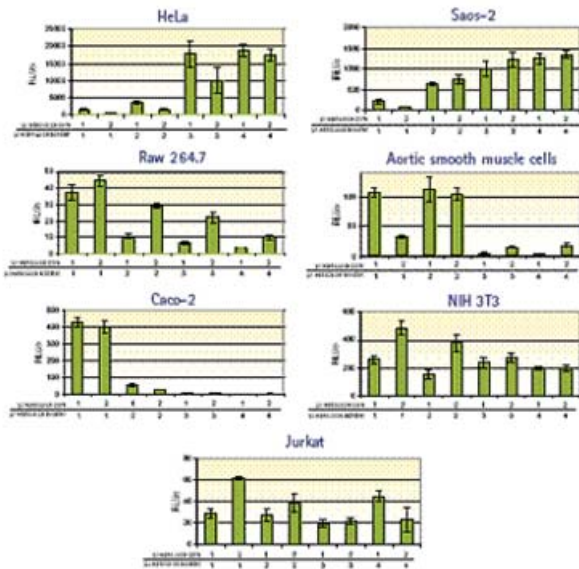


图 2 预实验

转染前 18-24h 在 24 孔板接种细胞，转染时细胞融合度为 60-90%。每 3 个重复的孔需准备：核心转染试剂 0.9-1.8ul，转染增强试剂 0.9-3.6ul，在 70ul 无血清培养基中稀释，室温孵育 5min。图中标明每 ug DNA 所采用的 NanoJuice 核心转染试剂和转染增强试剂的不同用量 (ul)。转染采用克隆了 Renilla 荧光素酶报告基因的 pTriEx-5 重组子，每孔 DNA 用量为 0.9ug。质粒上带有 CMV 启动子，N 端 Strep•Tag® II 标签，Rluc 报告基因和 C 端 His•Tag® 标签。转染混合物在室温下孵育 15min。每孔加入转染混合物 20ul。24-72h 后，以 100ul Reportasol™ 试剂抽提。10ul 细胞抽提液中 Rluc 的活性采用试剂盒 MightyLight™ 分析。统计每孔相对光单位(RLU/well)，3 个重复取平均值。

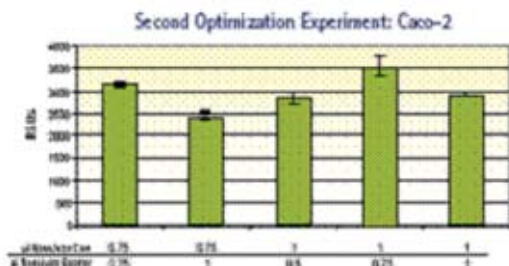


图 3 进一步优化实验

转染前 18-24h 在 24 孔板接种细胞，转染时

细胞融合度为 60-90%。每 3 个重复的孔需准备：核心转染试剂 0.68-0.9ul，转染增强试剂 0.45-0.9ul，在 70ul 无血清培养基中稀释，室温孵育 5min。图中标明每 ug DNA 所采用的 NanoJuice 核心转染试剂和转染增强试剂的不同用量 (ul)。用于转染的报告重组子同图 2 实验，每孔 DNA 用量为 0.9ug。转染混合物在室温下孵育 15min。每孔加入转染混合物 20 ul。48h 后，以 100ul Reportasol™ 试剂抽提。10ul 细胞抽提液中 Rluc 的活性采用试剂盒 MightyLight™ 分析。统计每孔相对光单位 (RLU/孔)，3 个重复取平均值。

### 卓越的转染效果

分别确定了 NanoJuice 试剂的最佳用量和配比后，我们尝试在后续实验中，分别转染了 Saos-2, Caco-2, Raw264.7, Jurkat 和动脉平滑肌细胞。同时以市售的其它转染试剂做对照（按厂家提供的产品说明书操作），实验结果（图 4）显示，由优化的 NanoJuice 混合试剂转染的细胞表达 Renilla 荧光素酶的产量明显高于其它转染方法。另外，我们也比较了 NanoJuice 与 GeneJuice® 转染试剂对于 Caco-2, Raw264.7 和 Saos-2 细胞系的转染效果（图 5）。对于那些转染较为困难的细胞系，NanoJuice 转染试剂盒获得的 Renilla 荧光素酶表达产量均高于 GeneJuice 转染试剂。

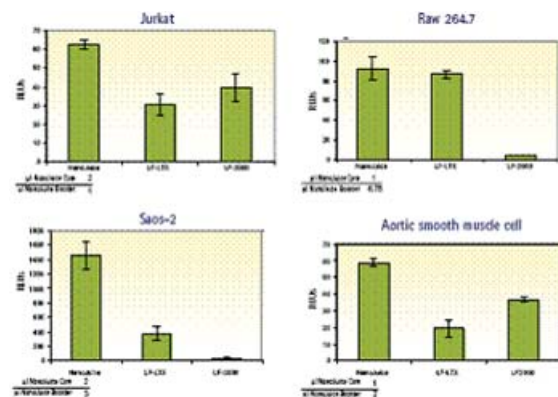


图 4 NanoJuice 与其它转染试剂的比较

转染前 18-24h 在 24 孔板接种细胞，转染时

细胞融合度为 60-90%。转染操作按厂家说明书进行。用于转染的报告重组子同图 2 实验, NanoJuice 转染试剂采用图 2 实验中确认的每种细胞的相应最佳用量。(图中显示每 ug DNA 所用的两种 NanoJuice 试剂用量 ul) 24-48h 后, 以 100ul Reportasol™试剂抽提。10ul 细胞抽提液中 RLuc 的活性采用试剂盒 MightyLight™ 分析。统计每孔相对光单位 (RLU/孔), 3 个重复取平均值。

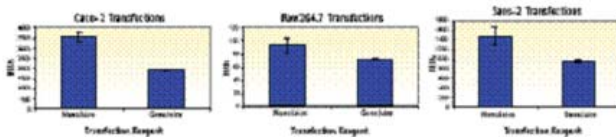


图 5 NanoJuice 与 GeneJuice 转染“困难”细胞的结果比较

两种来自 Novagen 的 DNA 转染试剂用于转染 Caco-2, Raw264.7 和 Saos-2 细胞。转染前 18-24h 在 24 孔板接种细胞, 转染时细胞融合度约为 80%。按图 2 和 4 的条件转染。两种 NanoJuice 试剂的用量采用图 2 实验的最佳用量。3 个重复取平均值。

### 细胞毒性讨论

成功转染的另一个关键是细胞毒性低。细胞受损的表现包括形态上变圆或细胞不再贴壁等。转染 48 小时后拍摄的照片中 Saos-2 细胞非常健康, 在同类产品中细胞毒性最低 (图 6)。

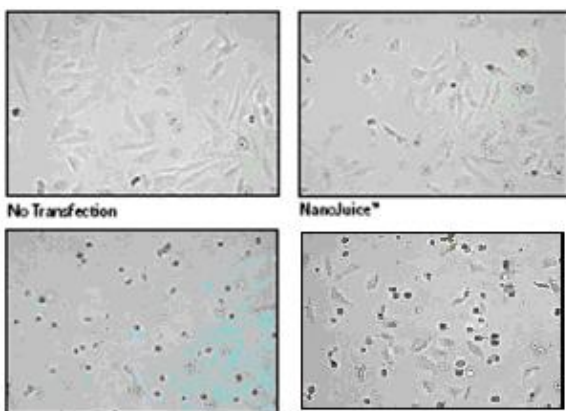


图 6 毒性比较

NanoJuice 转染, 其它转染试剂转染和无转染阴性对照的细胞毒性比较。采用 Saos-2 细胞转染, 每实验 3 个重复。转染 48h 后拍照。

左上: 阴性对照; 右下: NanoJuice 转染;

下图为两种常见市售转染试剂的细胞毒性实验。

### 小结

NanoJuice 转染试剂盒易于优化而获得各种细胞的最佳转染效果, 包括那些原代培养细胞和转染极为困难的细胞。同时, NanoJuice 转染试剂细胞毒性很低, 与含有或没有血清的培养基兼容, 适用于稳定转染和瞬时转染, 操作简便而不需要更换培养基。该产品采用无动物源性生产, 保障您在严格限制动物来源试剂领域的使用。

[点击此处获取 NanoJuice 的更多产品资料!](#)

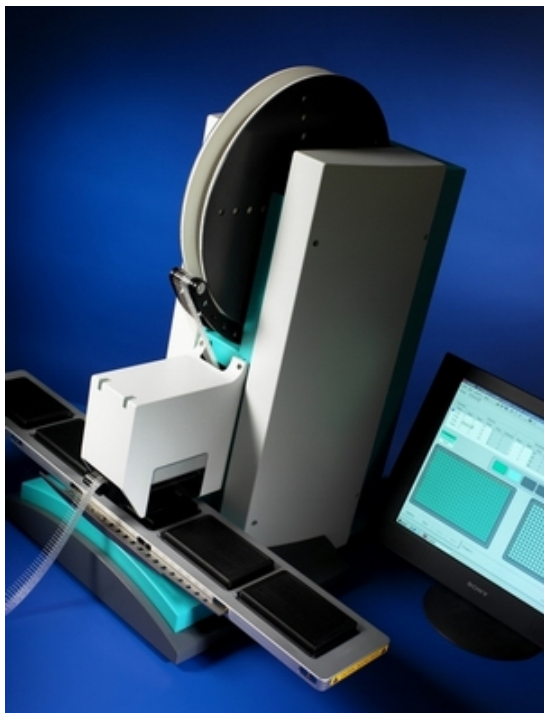
NanoJuice™ 转染试剂盒	货号 71902-3	240rxn	目录价 896 元
	货号 71902-4	2400rxn	目录价 5504 元

- 71902-3 国内备有现货
- NanoJuice 转染核心试剂和转染增强试剂可单独购买, 货号分别为 71900 和 71901。
- 提供中英文说明书
- 默克 Novagen 的 NanoJuice 正在进行“挑战新细胞转染”案例召集活动, 欢迎垂询 400 820 8872。

# 纳升级分液利器—mosquito®自动液体工作站

对于许多高通量筛选(HTS)部门来说,运行通量最大化和分析可靠性愈渐取决于一个关键因素:分析即用型板。这类分析即用型板通常已经包含了预先从储存库中以特定浓度制备好的待测。DMSO是常见的溶解化合物的试剂,但DMSO的浓度一旦高于1%,就会显著影响分析结果。因此,在制备分析即用型板时,要求准确地移取纳升级含DMSO的样品储存液,让DMSO保持低浓度。微升级以下的液体操作在技术上具有一定的挑战性,传统方法难以精确地确认低至几十个纳升的量取。

mosquito®是一种小体积液体处理仪器,它将低成本的一次性加样针头系统和容积式替换移液方式相结合,来确保零交叉污染。它在X、Y和Z轴的定位精确性优于0.05mm。mosquito能够移取上至1.2 µL、下至50 nL的体积,而不需要清洗针头。



这些特征,让mosquito在将纳升级的化合物溶液从存储库中转移到分析板上这种复杂转移操作时,拥有无比的准确性和可重复性。从而让这一在蛋白结晶领域已享有盛誉的纳升级液体处理工作站,越来越多地在各大跨国药厂和CRO的研发

部得到应用,在配制分析即用型板时进行纳升级液体分配。

为了评估mosquito液体处理器的准确性和精确度,本文使用Artel MVS来验证了湿式和干式分液中mosquito移取一系列不同目标体积的水溶液和DMSO溶液时的精确度和准确性。

## 操作

为了研究mosquito分液的精确性和准确性,本实验利用mosquito分别将MVS水溶液样品和含DMSO的MVS样品溶液分配至384孔板中;其中含DMSO的样品溶液是通过混合MVS储存(染料)液和DMSO溶剂来制备的。随后利用独立的分液器将MVS稀释液或缓冲液分配到孔中。通过MVS测量吸光值来计算每个孔的体积值。

## Artel MVS®

Artel MVS能在几分钟之内可靠地验证自动化液体处理器的准确性和精确度。MVS所采用的双染料比例式光度测定利用了两种有着不同吸收峰的染料,它们分别为520 nm(红色)和730 nm(蓝色)。六种包含不同浓度红色染料的样品溶液,用于检测仪器在将10 nL-350 µL的全部体积范围的液体分配到96孔和384孔板时的性能。蓝色染料的浓度在全部体积范围内所有样品溶液中都是恒定的,如同稀释缓冲液的浓度一样。因此蓝色染

料作为内标，来计算每孔的溶液深度。



自动化液体处理器分配样品溶液，并稀释到微量滴定板的孔中，然后分别在双波长下测量每孔的吸光度。MVS 应用比尔-朗伯定律，利用吸光值来自动计算液体处理工作站的每个移液通道所分配体积的精确度和准确性。

### 水溶液的准确性和精确度结果

在为优化加样性能所采取的调整很少的情况下，利用 MVS 对 mosquito 分配含 DMSO 溶液样品和水溶液样品的准确性和精确度性能进行了测定。精确度结果与 mosquito 公布的性能参数进行比较。

图 3 显示了 mosquito 在分别将水溶液和 DMSO 溶液分配至干燥的 384 孔板时所测量得到的精确度性能。对于 DMSO，每次体积转移都使用了单独的加样针。对于水溶液，对于特定加样体积的重复分液，加样针是重复使用的；仅在加样体积改变时才更换加样针。收集的数据显示精确度性能在 DMSO 和水状样品溶液中都具有极佳的可比性。mosquito 在所测定的各种特定体积下移液，在大多数情况下，精确度性能比厂家公布的参数还要好得多。

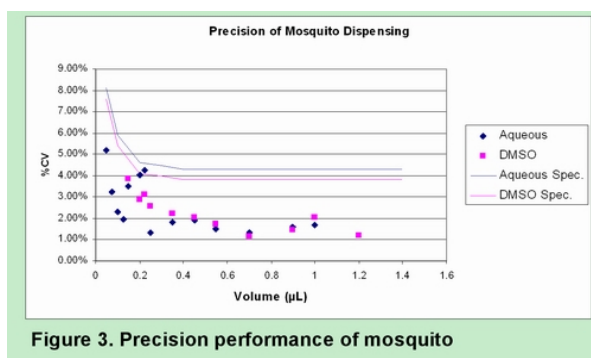
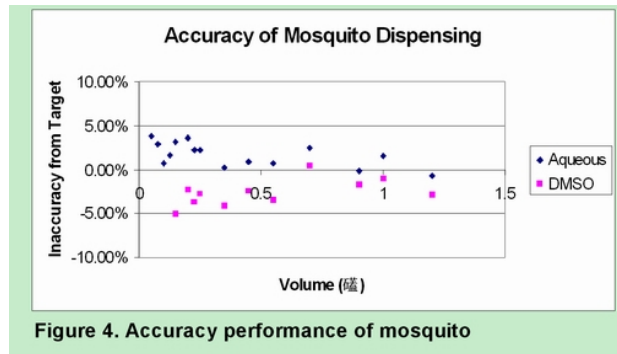
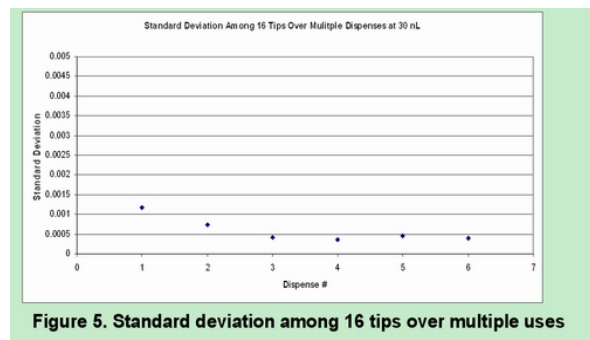


图 4 显示了 MVS 所测量得到的 mosquito 的准确性。在进行水溶液和 DMSO 样品溶液的分液时，mosquito 分液的误差都低于 5%。在液体处理器中设定补偿能实现两种样品类型加样准确性结果的一致（未显示）。



### 水溶液移液的加样针间差异

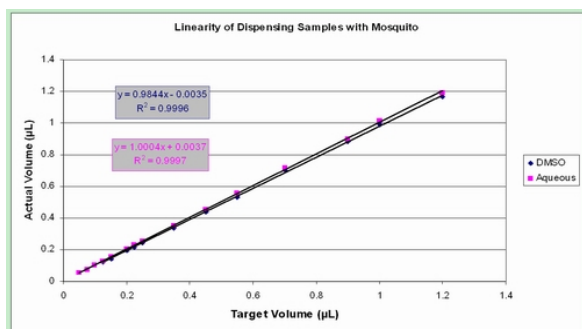
在此次性能评估中，水溶液的分配是通过一组 16 个单独的加样针、6 次重复的分液（不更换加样针）来进行的。每次分配时加样针之间的差异是通过计算 MVS 所测得的每个加样针体积的标准偏差来测定的。图 5 显示，尽管 mosquito 加样针是一次性的，但加样针的性能在多次使用后几乎没有改变。此次展示的数据仅限于同一个加样针的 6 次重复。



### 线性

收集的数据显示在分配 DMSO 溶液和水溶液样品溶液时，实际的分配体积与预期体积之间的相关性水平高，从而证明了 mosquito 在分配溶剂时的一致性能（图 6）。

## 结论



测量结果表明：无论是水溶液和含 DMSO 的样品，mosquito 在各种不同体积液体的分配中均表现出了比自身标注特性更出色的性能。

1. MVS 能很快且方便地检测 mosquito 的准确性和精确度，只需大约一天的时间即可收集全所有提交的数据。
2. 尽管制造厂商并没有特别强调 mosquito 的准确性 (accuracy)，但经 MVS 性能检测结果表明在分配检测体积范围内的水性和含 DMSO 样品时，无需调整和校正，误差也小于 5%。
3. mosquito 能可靠地分配不同的液体类型，且有着相同的精确性能。
4. mosquito 的加样针能使用多次，也不会带来加样结果的差异。

### mosquito®仪器特性

- 零交叉污染
- 移液体积范围从 50nL 到 1200nL
- 几乎可忽略不计的死体积，减少样品损耗
- 满足 96、384 和 1536 孔板格式
- 移液体积为 50nL 时差异系数(CVs)<8%，100nL 时 CVs < 4%
- 准确性：整体在±5%之内
- 可与其他自动化机器人轻松整合

表 1. mosquito®仪器的性能参数

	Mosquito
工作范围	25nL-1200nL，以 1nL 递增
分液方式	活塞控制的容积替换式加样针的移液方式
准确性	在 50nL 时<8%，在 100nL 时<4%
板类型	任何符合 SBS 标准板，48、96、384 和 1536 孔格式
板格式转换	一个操作流程可从 96 孔板转换到孔板 384，从 96 孔板到 1536 孔板或从 384 孔板到 1536 孔板
速度	系统具多功能性，可同步进行板复制（板对板 3.5 分钟）和板内连续稀释，节约了时间
适用液体	容积式移液管能够吸取/或者分配多种不同粘度的液体，如乙醇、水、DMSO、甘油和聚乙二醇等
死体积	可忽略不计-常规操作需要大约 10nL 的过量吸取
洗涤时间	不需要，因为使用一次性的移液加样针头
去离子步骤	不需要
使用方便性	简单、用户友好的界面，支持多用户环境
维护方便性	仅需最少的维护。取决于使用程度，推荐每使用 36000 个加样针头后花费 10 分钟重新校准
整合	mosquito 能轻而易举地与广泛各式的机械移液机和液体处理工作站整合，操作者无需值守

TTP LabTech Ltd.是全球知名的专业实验室仪器厂商，公司的创新型产品 mosquito®纳升级液体处理设备、Acumen®高内涵高通量筛选设备和 comPOUND®模块化样品管理和储存系统在全球工业界和学术界均有极高的市场占有率，声誉卓越。

TTP LabTech Ltd.公司的国内联系方式：

名称：英国腾拓生命科技有限公司上海代表处

址：上海市张江高科技园区蔡伦路 7 8 0 号 3 楼 J 座

电话：021-50793390/50793991

传真：021-50793992

邮箱：[china@ttplabtech.com](mailto:china@ttplabtech.com)

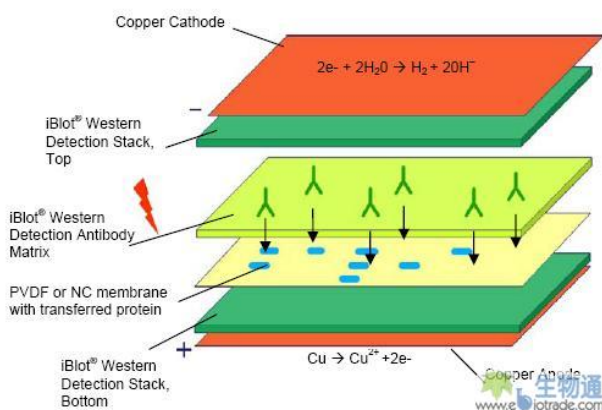
网址：[www.ttplabtech.com.cn](http://www.ttplabtech.com.cn)

## 25 分钟完成 Western 检测？！

Western blot 的原理很简单，不外乎抗原抗体、酶和底物间的相互作用；实验过程也并不复杂，主要就是摸索转膜时间、抗体浓度。然而，western blot 听上去还是像个浩大工程，为什么？因为它每个步骤耗费的时间都很长。想当年，一切都是自己动手的时候，配胶、跑胶、转膜、封闭、杂交、检测，这些步骤起码要花一天的时间，还得起早摸晚的。有时候结果不理想，那可真是无比沮丧。后来，有了预制胶，配胶的功夫省了，实验重复性也上了一个小台阶。再后来，Invitrogen 推出了 iBlot 干转仪，转膜只要 7 分钟，工作效率再次提高。但 western 的检测仍然是个乏味且耗时的工作，孵育、洗涤、孵育、洗涤……不知不觉，3 小时已悄悄溜走。

为了进一步提高 western blot 的效率，Invitrogen 最近又推出了 iBlot® Western 检测试剂盒，它可是 iBlot 干转仪的好搭档。它们俩密切配合，能将 western 检测从 3 小时缩短到 25 分钟。这其中的奥秘就是 iBlot 系统利用电场将带电荷的蛋白（一抗、二抗）迅速转移到膜上，从而加速了抗原-抗体的结合。以往 1 小时的抗体孵育现在 3 分钟就能搞定，而且封闭与一抗孵育是同步完成的。这是因为一抗稀释液中含有高浓度的蛋白，其浓度要比一抗高出 3-4 个数量级，所以非特异性结合可以忽略不计。也有可能是封闭蛋白的分子量比较小，在电场作用下跑得更快。

下图显示了 iBlot 系统的工作原理。其中浅绿色的就是抗体基质，抗体在电场作用下转移到膜上。



抗体转膜的过程与蛋白转膜相似，只要将这些材料按顺序擦好，赶走气泡就行了。千万不要把顺序搞反了。具体的操作步骤如下：

1. 将绿色的抗体基质放置在透明薄板上。利用一个干净的移液器，将一抗溶液均匀地加在基质上。迷你胶约需 3-5 mL；标准胶需 7-9 mL。如果你想尝试不同的抗体浓度，也可以将基质剪开，分别加上不同浓度的抗体，并用试剂盒自带的 Spacer 隔开。

2. 移去 iBlot® Western 检测阳极堆积层（底部）上的封膜。将装有阳极堆积层的塑料托盘直接放置在转印表面。将托盘与右侧的凝胶挡板对齐。

3. 用镊子将润湿的膜放在阳极堆积层上，并利用转印滚筒赶走气泡。

4. 用镊子将抗体浸润的基质放在膜上。利用转印滚筒赶走气泡。

5. 移去 iBlot® Western 检测阴极堆积层（顶部）上的封膜。将阴性堆积层放在绿色基质上，电极一面朝上。利用转印滚筒赶走气泡。

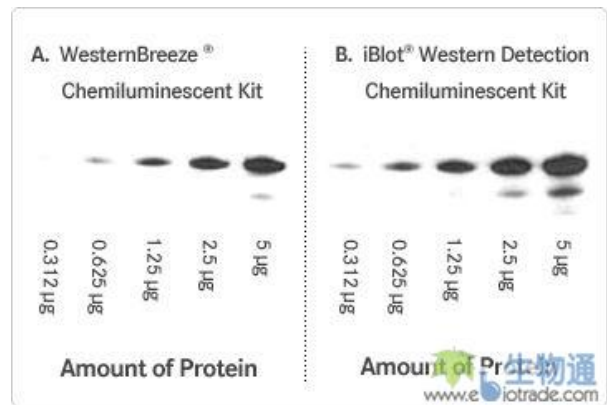
6. 选择程序 P7，设定转移时间为 3 分钟。

7. 对于二抗，重复步骤 1-6。

8. 在第二次转移过程之后，洗涤膜，接着进行检测。

检测步骤与常规的 western 相同。试剂盒中提供了抗小鼠或抗兔的二抗，与化学发光和显色检测兼容。除此之外，iBlot Western 检测试剂盒还提供了 western 检测所需的所有溶液——抗体稀释液、洗涤液、检测底物（化学发光或显色）以及 iBlot® 检测堆积层。你唯一需要自备的试剂就是一抗。

说了这么多，大家最关心的肯定还是实验结果。又快又好，那才是大家所希望的。下图是 iBlot® Western 检测试剂盒与 WesternBreeze®试剂盒的比较。利用 iBlot® 干式转印系统将来自 SW480（人结肠腺癌细胞系）裂解物的蛋白转印。小鼠抗-p53 抗体作为一抗。检测分别由 (A) WesternBreeze® 化学发光试剂盒-抗小鼠或(B) iBlot® Western 检测试剂盒（抗小鼠）来进行。实验表明，iBlot® 试剂盒检测蛋白的灵敏度与 WesternBreeze® 试剂盒相当。



预制胶+iBlot 干式转印仪+iBlot Western 检测试剂盒，这真是个完美的组合，western blot 能一下子从一天缩短到 2 个小时，工作效率大大提高。但通常省时省事的产品都不省钱，这个也不例外，适合 10 次 mini 胶检测的试剂盒（含 PVDF 膜）价格在 4000 多，其实光看堆积层中的铜电极，就知道价格不菲。对于那些不差钱的实验室来说，为了赶进度、发好文章，或许也是值得的。

[点击索取iBlot Western检测试剂盒的更多资料及报价!](#)

（生物通 余亮）

# Sigma 全新推出高质量活性激酶

Sigma-Aldrich 公司近日推出一系列高质量活性激酶——Precisio™激酶，将帮助科学家更好地了解蛋白磷酸化和细胞信号。Precisio 激酶专为高通量激酶筛选和图谱分析而优化，能够鉴定胞内进程，并有助于治疗癌症、糖尿病和高血压等疾病的新疗法的开发。

蛋白激酶是细胞间通讯所必不可少的，调节了发育、转录、免疫反应、代谢、凋亡和细胞分化中的信号转导。激酶功能不当会引起多种疾病，最为突出的就是癌症。这些蛋白及它们的功能研究有助于新药靶点的探索与开发。

Sigma-Aldrich 的 Precisio 激酶适合于高通量筛选和图谱分析。每个 Precisio 激酶包含了批次优化的分析步骤，确保高性能，以及多种应用中的快速执行和一致结果。

该公司市场部副总裁 Helge Bastian 表示：“Precisio 激酶经过改造，具有科学家们在高通量应用中所需要的质量和一致性。结合 Sigma 现有的激酶和磷酸酶产品线，这些新产品将促进我们更好地理解信号通路，并为新药和治疗靶点的开发打下基础。”

Precisio 激酶补充了 Sigma-Aldrich 现有的激

酶和磷酸酶研究领域产品，包括激酶抗体、底物、抑制剂、激活剂和细胞分析试剂盒。如果你想了解更多关于 Precisio 激酶的信息，请访问 [www.sigma.com/precisiokinases](http://www.sigma.com/precisiokinases)。

## 关于 Sigma-Aldrich

Sigma-Aldrich 是一个领先的生命科学和高科技公司。它的生化和有机化学产品和试剂盒广泛应用于基因组学研究、生物技术、药物研发和疾病诊断，并成为药物及其他高科技生产的关键组分。该公司的客户遍布生命科学公司、大学和政府研究院、医院和工业。超过百万科学家和技术人员使用其产品。Sigma-Aldrich 致力于通过在生命科学的领导地位、高科技和服务来加速客户的成功。如需 Sigma-Aldrich 的更详细信息，请访问其屡获大奖的网站 [www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)。

（生物通 余亮）

# 通用电气推出 ÄKTAmicro 液相色谱系统

通用电气医疗集团最近推出了 ÄKTAmicro 液相色谱系统。它是专门为小的样品体积和浓度设计的，纯化重复性好，并能实现靶分子的鉴定。新系统包括收集极小组分体积的 Microfraction Collection Kit，以及易用性有所改善的 UNICORN wizard control system。

ÄKTAmicro 是一个完全生物惰性的系统，能用于纯化各种来源的靶分子，如完整的蛋白、蛋白复合物以及核酸，并是靶分子鉴定的理想选择。该系统还适合于方法开发中的快速纯化/回收分析。该系统具有很大的应用灵活性，包括反相和离子交换层析技术，以及凝胶过滤（分子排阻层析）。

系统装有高性能的 P-905 泵（为低流速而优化）以及“flow between run”的功能，以确保最大的重复性。这让该系统非常适于常规的纯度分析、功能鉴定以及蛋白质组的预分样。监控器 pH/C-900 提供了在线梯度监控，以及疑难排解的有用信息。监控器 UV-900 提供了 190-700 nm 范围内的多个波长检测。

层析柱可从微内径纯化的精确柱（Precision Column）中选择。该系统兼容短的 Superdex 5/150 GL 柱，它是快速纯度分析的最佳选择。柱子直接与监控器 UV-900 的流动池连接，通过避免死体积将灵敏度和分辨率最大化。

整合的 UNICORN 软件还能对任何规模的层析和肽段合成系统进行实时控制，包括实验室研究

到开发再到大规模的生产。它目前应用在许多 FDA 批准的生物药品的生产过程中。Method Wizard 提供了轻松的方法生成，而自动化的 Evaluation Procedures 能进行大量的数据评估。

## ÄKTAmicro 液相色谱系统的特点：

对于高性能的靶分子微纯化和鉴定，利用了微内径柱

部件由惰性和生物兼容的材料来制造，确保最大的回收效率，且容易清洗

将柱子直接连接到 UV 池，并将管道、阀门和流动池的死体积减至最低，优化分辨率，

在方法开发和药物靶点鉴定中，通过凝胶过滤来进行快速、准确的纯度分析

系统能在低压条件下运行，使其兼容软琼脂糖填料，以进行快速、可重复的凝胶过滤

系统与光散射装置连接，能实现溶液中蛋白的完全鉴定以及在线分子量分析

（生物通 余亮）

# Amnis 发布新的 ImageStreamX 图像流式细胞仪

Amnis 公司的 ImageStream 图像流式细胞仪大家应该还记忆犹新吧，它被评为 2008 年度生命科学十大创新产品之一，是流式细胞仪上的新突破。Amnis 公司这个高级细胞成像系统的制造商再接再厉，最近又推出了第二代的 ImageStreamX 成像流式细胞仪。这个全新的仪器将流式细胞仪的速度、灵敏度和分型能力与显微镜的详尽图像及功能观察融为一体。



ImageStreamX 能够确定荧光探针的强度和位置，在每分钟对 50000 多个细胞进行成像，让你能分析稀有的亚群及高度异质的样品，并拥有统计学可靠及客观的结果。与第一代的 ImageStream 相比，ImageStreamX 更快速，拥有更多的激发光和检测通道，图像质量更高，生产力更强，大大扩展了平台能力。

有了 ImageStreamX，你能：

直接对悬浮细胞成像，有着 60×显微镜的分辨率和最佳流式细胞仪的荧光灵敏度

利用每个细胞的 12 张图像同时进行表型和功

能研究

分析高度异质的样品和稀有的细胞亚群，速度为每秒超过 1000 个细胞

利用 IDEAS 软件包的多个预设定荧光和形态参数，对你能看到的一切进行定量

Amnis 的创始人及首席运营官 William Ortyrn 评论道：“ImageStreamX 比以前快了 10 倍，图像质量更佳，对每个细胞能呈现 12 幅图像。再也没有其他的细胞分析平台能为你提供如此多的信息，让你将详细的功能和表型研究结合起来。”

关于 Amnis：总部设在美国西雅图的 Amnis 公司开发、制造并推广了高速细胞成像系统，用于科研和诊断市场。最初的 ImageStream 系统在 2005 年推出，已在全世界 50 多个实验室中使用，拥有卓越的性能和可靠性。研究人员已经利用 ImageStream 技术发表了 75 篇突破性的论文和无数会议海报及报告。

（生物通 余亮）

# Promega 公司推出 GloMax®-Multi+ 多功能检测仪

--实现叠加检测，获得高质量数据，提升研究效率

Madison, WI USA. (2009年5月21日) Promega 公司刚刚推出了 GloMax®-Multi+ 多功能检测仪，该仪器具有交叉并用功能，可在荧光、发光和吸光度检测模式下工作。利用此 GloMax-Multi+ 多功能检测仪，科学家们能够轻松地将细胞学检测实验进行叠加，从同一块微孔板的样品中读取发光强度和荧光强度数据。除了叠加实验，其优点还包括在更短的时间内获得高质量的数据，并提高研究效率。



(GloMax®-Multi+多功能检测仪，图片来源：  
Promega 公司)

GloMax®-Multi+多功能检测仪为科学家带来许多好处，包括：

- 具有叠加能力。从单个样品孔中检测发光和荧光强度以确定细胞活力、细胞毒性、细胞凋亡和报告基因分析的等参数。

- 灵活配置多种检测技术。可读取荧光强度、发光强度和 UV-可见光的吸光度值。模块化的设计方式能够使研究人员随其应用需要来扩展模块的配备。

- 获得高质量数据。此仪器的各模块均为专一功能的光学检测通路，确保其检测灵敏度和动态范围与目前最好的单功能检测仪保持同等水平。

- 可选择多种规格的微孔板：研究人员可自由选择检测通量，包括 6 孔板、12 孔板、24 孔板、

48 孔板、96 孔板和 384 孔板。

- 实现简便的检测程序设定：GloMax-Multi+ 多功能检测仪带有拖放式的检测程序编辑软件，检测程序设置简便，编辑过程在 LCD 彩色触摸屏上显示。该仪器还预置了 Promega 的检测程序，用户还可选配额外的自动进样系统，从而能够进行 Dual-Luciferase® 双报告(DLR™)基因检测。

GloMax®-Multi+多功能检测仪还带有内置的振荡器，可进行直线和圆周振荡混合。研究人员还可以选配加热块，以实现精确控温，加热范围为高于环境温度 2°C 到 45°C。

GloMax 系列检测仪已经有 3 款不同机型，发光检测的性能无可匹敌，GloMax®-Multi+多功能检测仪的加入使这一系列更趋完善。

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)。

# 罗氏最新推出可检测甲型 H1N1 流感病毒的完整试剂盒

2009 年 5 月 14 日，罗氏应用科学部宣布已成功研制开发了一款可检测甲型 H1N1 流感病毒的检测试剂盒，目前也正在向卫生组织申请获取批准用以突发事件。

该试剂盒可应用于罗氏 LightCycler® 480, 2.0 和 1.5 荧光定量 PCR 平台上，经过阳性病毒样本检测，证明能特异性检测出最新的甲型 H1N1 流感病毒。与目前市面上现有的试剂盒相比，该款试剂盒在效率和操作方面都具有更大的优势。

罗氏应用科学部总监 Manfred Baier 在提到该产品时说到“借助多方面的研究合作所提供的信息，帮助我们研制和设计出该款全新检测试剂盒。我们很高兴可以提供这样快速、可靠的甲型 H1N1 流感病毒检测工具。”

罗氏应用科学部提供的多样化产品可有效应用于甲型 H1N1 流感病毒的检测鉴定，包括 MagNA Pure 自动核酸纯化系统和 High Pure 手动核酸分离纯化系列产品，LightCycler® 荧光定量 PCR 系统，NimbleGEN 芯片系统以及 Genome Sequencer 高通量测序系统。目前，公司也正在于全球多个研究机构和检测中心合作，对甲型 H1N1 流感病毒的特性和检测方法进行研究。

目前，市场上还没有有效的疫苗可抵抗甲型 H1N1 流感。标准的治疗方案是采用达菲 (Tamiflu) 或是乐感清 (Relenza)。想要了解更多有关甲型 H1N1 流感的相关信息，请登陆 [www.who.int](http://www.who.int)。

[更多详细资料>>>](#)

关于罗氏应用科学部

罗氏的诊断部门在成功收购德国宝灵曼公司 (Boehringer Mannheim GmbH.) 后，成立了专业服务于科学研究领域用户的罗氏应用科学部 (Roche Applied Science)，凭借半个多世纪在生命科学研究领域积累的经验，罗氏应用科学部已成为在此领域中具领先地位的试剂及系统供应商之一。从耗时少、全自动的样本制备系统 (MagNA Lyser 和 MagNA Pure)，到快速精准 LightCycler® 系列荧光定量 PCR 仪，以及创新的超高通量基因组测序系统 Genome Sequencer FLX System 和 NimbleGEN 高密度 DNA 芯片，以及最新的 xCELLigence 实时、无标记、高通量细胞分析系统，罗氏应用科学部研究和开发了多种应用于分子生物学相关研究领域的产品——广泛地应用在基因组学和蛋白组学研究中。此外，罗氏应用科学部也提供用于生物医药和诊断行业方面的试剂，为用户需求提供完整的解决方案。

了解更多信息请登陆：  
[www.roche-applied-science.com](http://www.roche-applied-science.com).

Tamiflu is a registered trademark of Roche Laboratories Inc

LIGHTCYCLER and REALTIME READY are trademarks of Roche.

Other brands or product names are trademarks of their respective holders

# 全新 MagNA Pure LC 总核酸分离试剂盒-High Performance

Michael Kirchgesser\*, Sabine Eppler, Christel Adem, Sabine Mitzel, Werner Malmberg, Claudia Kappelsberger, Louise Zieseniss, Peter Wenzig

Roche Applied Science, Penzberg, Germany

\*通讯作者: [michael.kirchgesser@roche.com](mailto:michael.kirchgesser@roche.com)

## 前言

现在有许多用于核酸分离的——人工和自动——试剂盒和方法。但是，其中很少能保证全自动的样品制备，同时保证最高回收率和灵敏度。因此罗氏诊断公司开发了全新的 MagNA Pure LC 总核酸分离试剂盒-High Performance。这种试剂盒基于经典的磁珠分离技术，后者成功用于不同的 MagNA Pure 自动核酸分离纯化系统已有多年。这个新试剂盒通过技术优化，保证了总病毒 DNA 和 RNA 从血浆、血清和全血中的极高回收率，从而适用于高灵敏度的病毒核酸检测。此外，它使可处理的样品量范围达到 100-1000 $\mu$ l。并且，如果需要的话，还有外部裂解方法可供选用，从而允许在 MagNA Pure LC 仪器之外进行病毒灭活。

[索取试剂盒的说明书及报价!](#)

## 材料和方法

新试剂盒是用人 EDTA 血浆、枸橼酸盐血浆、血清和全血作为样品材料开发的。本研究中，在样品中添加不同量的 DNA 病毒（巨细胞病毒、EB 病毒）和 RNA 病毒（甲型肝炎病毒、甲型流感病毒），并在 MagNA Pure LC 仪器及对照平台上进行处理。所有样品至少以 4 倍复制进行试验。纯化核酸的洗脱体积为 50 或 100 $\mu$ l。对上述 4 种病毒类型，采用参数特异的定量实时 PCR 和 RT-PCR 分析，在 LightCycler®480 实时荧光定量

PCR 系统上进行分析。用 15 $\mu$ l 各种预混液和 5 $\mu$ l 各种洗脱液建立扩增反应，并运行 45 个周期。

## 结果和讨论

所有试剂盒组成部分都进行了优化，对不同试剂组成进行了试验，更改了所有的处理步骤和反应条件以寻找最佳的总核酸（TNA）分离程序。新方法兼容 MagNA Pure LC 1.0 仪器和最新的 MagNA Pure LC 2.0 仪器。

## 灵敏度/阳性率

实验结果显示，达到最高的灵敏度需要非常充分的结合步骤，这就需要相对长的运行时间（32 份样品需要 180 分钟）。这种“高灵敏度（总 NA HS）方法”允许对于每次分离检测低于 100 个病毒拷贝数（用 200 $\mu$ l 样品量），理论上相当于每次（RT-）PCR 可检测低于 10 个拷贝。这种方法在我们的灵敏度试验中显示良好的结果（表 1），与当前实验室中最好的对照系统相似，甚至更好。

但对于许多应用，这种最高灵敏度不是必需的，因此我们也开发了一种耗时较短的“高性能（总 NA HP）方法”，即灵敏度稍低，但速度快得多（32 份样品需 90 分钟）。

表 1: 新的“总 NA HS”和“总 NA HP”方法以及对照系统之一的阳性率。对于阳性率试验，将大约为检测极限的病毒量加入 24 份样品。在核酸分离

和检测后，计算 PCR 阳性洗脱液（“阳性”）的百分比。括号中是每份样品中加入的大约病毒拷贝数，注意病毒滴度的测定通常具有一定不精确性。

分离方法	HAV (66 个拷贝)	Inf.A (50 个拷贝)	EBV (200 个拷贝)	CMV (100 个拷贝)
“总 NA HS 200”	100 %	100 %	79.2 %	91.7 %
“总 NA HP 200”	100 %	100 %	33.3 %	83.3 %
对照方法 B	91.7 %	91.7 %	62.5 %	91.7 %

### 回收率

为了比较新试剂盒与当前最佳对照方法的回收率，用大约每份样品 104 个拷贝的“中等”病毒浓度对新的“总 NA HP”、“总 NA HS”方法，以及对照方法 B 进行并行运行。结果与阳性率实验相似：新的试剂盒和方法显示了卓越的性能（图 1），尤其总 NA HS 方法与当前实验室中最好的对照系统相似甚至更好。

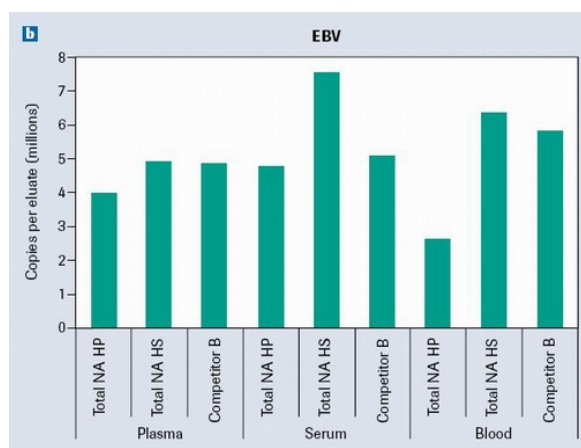
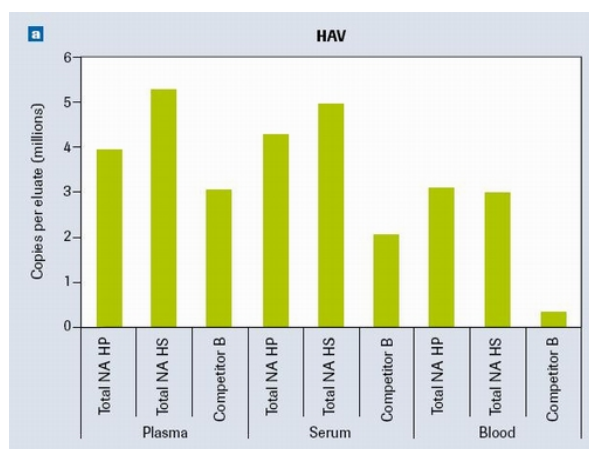


图 1：不同样品类型的病毒核酸回收率。 举

例显示了 HAV 和 EBV 的结果。新的“总 NA HS”和“总 NA HP”方法的分离效率与最佳对照方法相似。柱状图显示了通过定量（RT-）PCR 计算的分离拷贝数差异。每个柱形显示了 4 倍复制的平均值。在所有情况下，“总 NA HS”方法或与对照方法处于相同范围，或显著优于对照方法。

### 交叉污染试验

用 16 份阳性和 16 份阴性血浆样品，排列成棋盘图形，对新的试剂和方法进行交叉污染检查。阳性样品中加入含 Parvo B19 特异性序列的质粒，最终浓度为  $1 \times 10^7$  和  $2.5 \times 10^8$  个质粒/ml。在 MagNA Pure LC 1.0 仪器和 MagNA Pure LC 2.0 仪器上进行分离。用两种 MagNA Pure LC 仪器上的自动分析设置对洗脱液进行分析，然后在 LightCycler® 480 系统上进行敏感性 Parvo B19 特异性 PCR 试验，均未发现交叉污染。

### 大样品量方法

新试剂盒能处理 100、200、500 和 1,000 $\mu$ l 的样品量。试剂量允许对 100 或 200 $\mu$ l 样品进行 288 次分离，500 $\mu$ l 样品进行 192 次分离，1,000 $\mu$ l 样品进行 96 次分离。500 和 1,000 $\mu$ l 样品的方法只适用于血浆或血清，而不适用于全血，因为血细胞中含有大量的基因组 DNA。

### 结论

本研究显示，全新的 MagNA Pure LC 总核酸分离试剂盒- High Performance 允许从多种样品材料中对总病毒核酸进行全自动高效分离，具有高回收率和灵敏度。用户可以根据特殊需要在几个不同方法间作出选择。此外，灵活的试剂概念可以处理大范围的样品量，因此这种新试剂盒的上市将成为感染性疾病自动分析环节中的有效工具。

### 订购信息

产品 <b>新!</b>	包装大小	目录号
MagNA Pure LC 总核酸分离试剂盒 -High Performance	1 kit	05323378001

# 使用 Rox™的好处 —确保您获得均一的定量 PCR 实验结果

某些不含有 Rox™均一化参比染料，或是无法在整个实验过程中使用参比染料的定量 PCR 平台，常常试图贬低使用参比染料的价值。然而事实是，在定量 PCR 反应过程中 Rox™染料是一种非常有价值的工具，能带来以下多方面好处：

- 校正单次反应运行中由于泡沫或蒸发/冷凝而导致的信号改变；
- 为故障分析提供一项强有力的诊断工具：每次循环采集参比染料信号，不受 PCR 反应影响；
- 均一化校正由于移液误差或蒸发所导致的批内体积差异；
- 均一化校正批间体积差异，提供更连续一致的批间重复 Ct 值。

美国应用生物系统公司(Applied Biosystems)认识到均一化工具(Rox™参比染料)的好处，并在所有 AB 定量 PCR 仪上优化，以便实验人员充分利用 Rox™参比染料所带来的好处。此外，所有 AB 生产的 Real-Time PCR Master Mix 试剂液都预掺入最合适量的 Rox™参比染料，从而确保每次实验每个反应都获得最好的结果。

## Rox™校正单次反应运行中的信号改变

在理想反应条件下，报告荧光染料的信号值起始于基线，当反应体系中存在合适的靶分子时，报告荧光染料会随着 PCR 反应的进行，产生出一条典型的扩增曲线，仪器软件通过扩增曲线计算结果。如果扩增曲线只是简单地根据报告染料的荧光信号而绘制，将会难以区分样品的真实差异和随机反应条件带来的人为差异。现实中，有许多事件可能影响报告荧光染料的表现：泡沫会形成荧光信号尖峰；蒸发或冷凝会造成反应体系浓度改变，导致

不同反应批次间荧光信号值增强或减弱(见图 1)。这类事件会同时影响报告荧光染料和 Rox™参比染料，所以使用 AB 的定量试剂与仪器时，根据 Rn 值绘制扩增曲线，采集的是报告荧光染料减去 Rox™参比染料的荧光差值，任何潜在的人为误差因素都被均一化，从而排除在最终结果之外。



图 1：多组分图显示 Rox™信号和报告染料信号一同抬起，结果指示存在蒸发

## Rox™提供强大的故障分析工具

Rox™参比染料作为故障分析工具的价值同样不应被低估。如果一个反应失败了，依靠 Rox™参比染料确保在反应过程中有持续不变的信号标准十分重要。Rox™信号可以提供反应设置的信息提示：无 Rox™信号，很明确地表明没有放置 Master Mix 试剂；异常大的信号值强度差异，提示可能放置了 2 倍反应体系；Rox™信号不规则变化，提示可能存在仪器故障。AB 公司的技术支持在故障排除工作中总会使用 Rox™参比染料，以帮助在更短时间内获得更多信息量的检测结果。

## Rox™均一化反应体积差异

以下实验数据证明了 Rox™参比染料在校正

移液误差所导致的反应间均方差上的价值,同时也证明 AB 定量 PCR 仪器在使用或不使用 Rox™ 参比染料都能获得很好的性能表现和精确性。

[了解更多关于ROX参比染料的小知识及相关产品!](#)

### 实验一：获得高精度不一定需要 Rox™

从 AB RNase P Instrument verification Plate 中取出反应混合液,分别移液入对应的 Fast 96 孔板中。在 AB 7500 Fast Real-Time PCR 仪上运行这块板。数据分析分别采用 2 组模式,一组为正常的减去 Rox™ 参比染料,另一组将参比染料设置成“None”,从而显示使用 Rox™ 信号均一化处理数据的价值。技术重复(24 次重复)的结果显示,使用 Rox™ 和不使用 Rox™ 都得到了很好的结果。使用 Rox™ 一组的 Ct 值 SD(标准偏差)0.042,不使用 Rox™ 一组的 Ct 值 SD(标准偏差)0.108(见图 2)。

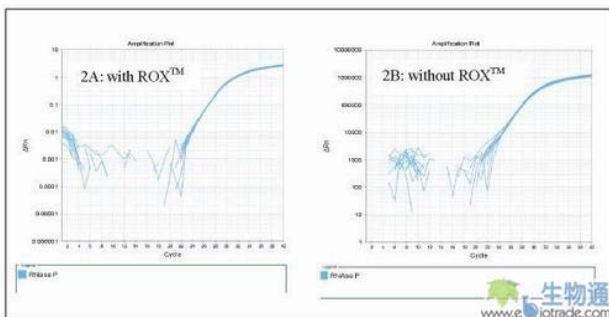


图 2: 技术重复的扩增曲线,分别采用 Rox™ 校正(2A)和不采用 Rox™ 校正(2B),显示重复的结果聚合紧密,散布很小。

### 实验二：Rox™ 均一化处理校正移液错误

通过系统地减少从 RNase P Plate 中移出的样品,加入分子纯级水补齐体系,来模拟移液错误对运行精确性的影响。图 2 描绘了实验一中的原体积样本,以及 3 个移液错误重复:分别含 0.5, 1.0 和 1.5µl of ddH<sub>2</sub>O(样本体积相应减少)。数据分析时使用 Rox™ 参比染料校正初始浓度差异(由移液错误导致的),得到的 Ct 值 SD(标准偏差)为 0.075;

而不使用 Rox™ 参比染料校正的 Ct 值 SD(标准偏差)为 0.174(见图 3)。

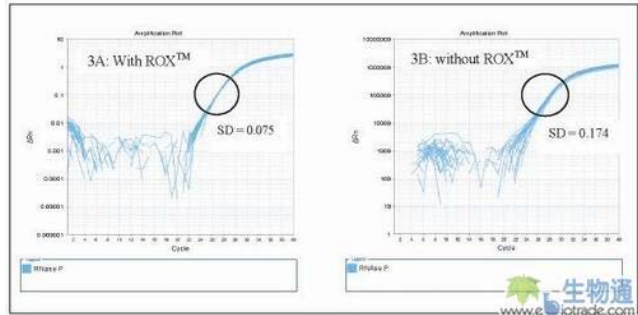


图 3: 技术重复与 3 重模拟样本移液错误(分别用 0.5, 1.0 和 1.5µl ddH<sub>2</sub>O 替代等量样本模板)的扩增曲线。使用 Rox™ 可以校正起样本始体积(或浓度)的轻微差异(3A),而不使用 Rox™ 时可以明显看到轻微的散布(3B)。

### 实验三：Rox™ 均一化处理确保定量反应精确性

相似地,直接从 RNase P Plate 中移出反应混合液进行重复实验绘制标准曲线,比较使用 Rox™ 和不使用 Rox™ 分析时的精确性差异(见图 4),结果 R<sup>2</sup> 值分别是 0.997 和 0.99。

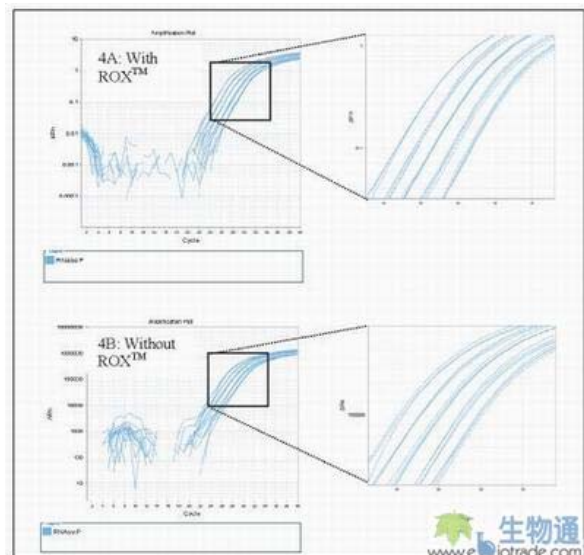


图 4: 重复 RNase P 标准品的扩增曲线,数据分析时分别用 Rox™ (4A)和不用 Rox™ (4B),结果表现都很好。

当反应体系中部分样品被 1 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 替代，Rox™均一化处理能够校正此类小错误，而当分析不包含 Rox™参比染料校正时，各个标准组中很明显地出现了更大的点散布(见图 5 和表 1)。

	Copy Number	Ct SD		$\Delta$ Ct SD
		+ROX™	-ROX™	
Standards	1250	0.0850	0.1025	0.0175
	2500	0.1299	0.1541	0.0242
	5000	0.0372	0.1155	0.0783
	10000	0.0935	0.0544	-0.0392
	20000	0.0153	0.1215	0.1062
Standards +1.0 $\mu$ l H <sub>2</sub> O	1250	0.0768	0.2420	0.1652
	2500	0.1020	0.1901	0.0881
	5000	0.1345	0.3285	0.1940
	10000	0.1279	0.2408	0.1129
	20000	0.0749	0.1438	0.0689

表 1: 计算重复进行 RNase P 标准曲线实验的标准偏差(SD), 将其与 1 $\mu$ l 反应混合液被 ddH<sub>2</sub>O 取代的实验结果比较。使用 Rox™校正可有效减少错误。

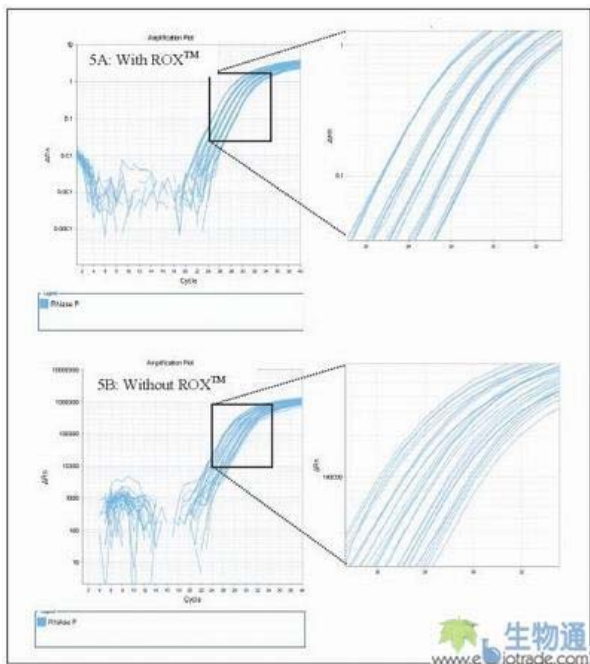


图 5: 重复 RNase P 标准品，及模拟移液错误样本(1 $\mu$ l 反应混合液被 ddH<sub>2</sub>O 取代)，绘制扩增曲线。数据分析时分别使用 Rox™(5A)和不用 Rox™(5B)，证明 Rox™可以校正由轻微起始样本浓度或反应体积错误而造成的差异。

表 1 显示了各个浓度重复反应的结果标准偏差(SD)。其中，直接从 RNase P plate 中移出反应混合液进行的重复实验，使用 Rox™或不使用 Rox™所得的 Ct 值 SD(标准偏差)差异很小(平均小于 0.04)。可是当模拟移液错误时，不使用 Rox™校正所得的 Ct 值 SD 差异远远大于使用 Rox™校正时的结果(10 倍于后者)。以上结果再次证明了使用 Rox™参比染料分析 Real-Time PCR 实验数据时的优势。

总之，以上实验的模拟错误只是任何实验室 Real-Time PCR 平台在实际操作中可能遇到的诸多错误中的一个。考虑到这类错误在日常中常常会出现，再加上上文中提到的其它与定量 PCR 平台相关的可能人为错误，显而易见，分析 Real-Time PCR 数据时使用 Rox™均一化具有明显的好处。

Applied Biosystems 及 AB (Design) 均为注册商标，ROX™是 Applied Biosystems 有限公司及其在美国和其他国家代表处的注册商标。

# HaloTag®技术助力 Evotec 筛选 25 万种化合物

德国生物技术公司 Evotec 最近借助 Promega 的 HaloTag®技术，完成了最大规模的筛选项目。Evotec 利用一种检测膜受体内化的分析，在活细胞上筛选了 25 万种独特的化合物。筛选鉴定出的化合物有望成为此治疗领域中的第一个。

经过大量的试验，Evotec 认为与其它技术相比，HaloTag 表现出了最强的性能。与其他荧光蛋白不同，融合 HaloTag 的蛋白不发出荧光，直到 HaloTag 与荧光配体结合。HaloTag 能让 Evotec 的科学家在低背景水平下特异标记受体，并提高了灵敏度。

筛选利用了稳定转染的细胞系，在共聚焦平板成像仪上展开，通量为每天超过 1 万个化合物。在标记了表面受体之后，研究人员根据抑制受体内化的表现来筛选化合物。

细胞表面受体经常成为新药化合物的靶点，而它们在细胞中的定位常常决定了胞内活性。Promega 特别开发出不同颜色的 HaloTag 配体，其中一些不能独自进入细胞，而与配体作用后能被动进入细胞。利用这些工具，科学家们能标记细胞内及细胞表面上不同的 HaloTag 蛋白。

Evotec 的高级研究员 Mark Slack 表示：“我们很高兴能够为我们的客户提供如此丰富的信息，速度如此之快。正是 HaloTag 这种先进技术扩展了

我们的能力和服务。”

## 关于 Promega 公司

Promega 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 Promega 公司的详细信息请访问 [www.promega.com](http://www.promega.com)。

## 关于 Evotec

总部设在德国汉堡的 Evotec，是开发创新型小分子药物的领先者。该公司建立了强大的平台，适用于所有治疗领域的靶点，在中枢神经系统相关疾病领域有着特别的专长。

（生物通 余亮）

# 生命科技公司 (Life Technologies) 倾力支持各大实验室对抗猪流感之战

生命科技公司 (Life Technologies-纳斯达克代码: LIFE) ----创新的生命科学方案供应商今天宣布, 现在向全世界的健康官员提供技术以帮助鉴定流感毒株, 特别是与最近爆发的甲型 H1N1 病毒, 即猪流感相关的毒株。

生命科技公司 (Life Technologies) 从主要业务部门抽调人员, 成立了一个特别的全天 24 小时候命的特遣小组, 专门协调整个公司对于来自全球各地的援助请求的回应。特遣小组全力向卫生机构提供了第一线的支持, 如仪器培训, 管理供应链以保证产品能尽快到达客户手中, 并确保遵循相应的法规。同时, 生命科技公司同时还加速生产供实验室检测和鉴定流感所需的组件。

“新病毒的传播蔓延说明了推行全球范围的强有力监控计划至关重要,” 生命科技公司 (Life Technologies) 的总裁兼首席运营官 Mark Stevenson 如是说。“从应对一个潜在流感病毒株的出现, 到转变成主动监控人群以便在流感发生时鉴定新毒株, 我们的技术一直成为公共卫生机构手中关键工具。”

生命科技公司 (Life Technologies), 通过旗下 Invitrogen 和 Applied Biosystems 两个品牌, 提供了多种组件以支持围绕着流感病毒株鉴定的整个实验流程。公司产品包括用于 RNA 纯化的 MagMAX™ 病毒 RNA 分离试剂盒; 用于病毒 RNA 扩增的 SuperScript® III Platinum® 一步法实时定量 RT-PCR 试剂盒; 用于初始 A 型流感病毒筛选的 TaqMan® A 型流感检测试剂盒 2.0; 以及用于确定病毒样品的碱基序列一系列不同的毛细管电泳系统。此外, 公司还提供 Applied Biosystems 品牌的 7500 Fast 和 7500 Fast Dx 实时荧光定量 PCR 仪。

去年 9 月, 7500 Fast Dx 仪器获得了美国食

品药品监督管理局 (FDA) 的 510(k) 许可, 可与美国疾病预防控制中心 (CDC) 的 CDC 人流感病毒实时荧光定量 RT-PCR 检测与鉴定试剂盒 (rRT-PCR Flu Panel) 共同使用。尽管这两个产品各自获得了独立的 FDA 510(k) 许可, 但它们必须共同使用, 作为一个系统来检测流感。

由于这次公共卫生紧急事件, FDA 向 CDC 发出了一封授权信, 授权紧急使用一个新的 CDC 实时定量 RT-PCR 猪流感检测试剂盒。授权信明确指示符合资格的实验室须在 Applied Biosystems 7500 Fast Dx 实时定量 PCR 仪或 7500 Fast 实时定量 PCR 仪上进行这项分析。

## 关于生命科技公司 (Life Technologies)

生命科技公司 (Life Technologies-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、耗材和服务可协助研究者加速科学探索与开发, 从而让生命变得更加美好。我们的客户遍及生物学各个领域, 努力加速推进个性化药物、再生科学、分子诊断、农业和环境的研究以及 21 世纪的法医鉴定。生命科技公司 2008 年的销售额超过 30 亿美元, 全球雇员接近 9500 人, 遍及 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 公司和 Applied Biosystems 公司合并而成。更多关于我们如何起作用的信息, 请访问网站 [www.lifetechnologies.com](http://www.lifetechnologies.com)。

(ABI 供稿, 生物通翻译)