

EBIOTECH

生物通技术周刊

第64期
2009年7月9日
全文下载

〔技术前沿〕

一种更高效的体外表达系统

NIH如何利用Acumen平台进行高通量、高内涵筛选？

〔新品速递〕

迅速实现基因沉默的新工具

是时候升级你的免疫沉淀啦

克隆喷一喷 新型IPTG-X-Gal喷雾

Clontech推出两款纳米转染试剂

Invitrogen推出HLA检测的新芯片系统

QIAGEN率先推出快速多重定量RT-PCR试剂盒

释放芯片的全部潜能——罗氏推出高分辨率芯片扫描仪

〔应用指南〕

且看Broad研究院如何填补基因组中的缺口

高灵敏度化学发光仪ChemiDoc XRS应用心得

新加坡基因组研究院联合罗氏NimbleGen：追踪甲型H1N1流感病毒的进化途径

〔行业动态〕

Illumina正式开展个人基因组测序服务

罗氏应用科学部在上海成立应用支持中心

赛默飞世尔三聚氰胺检测方法夺2009荣格技术创新大奖

一种更高效的体外表达系统

大肠杆菌表达系统虽然简单，但对于蛋白的生产往往不是最佳的选择。那些毒性蛋白或经历快速水解的蛋白就更加不适于体内表达，此时，无细胞蛋白合成系统更具优势。无细胞表达系统中包含了蛋白生产所需的所有必要元件，这些元件来自细胞提取物或重组蛋白。相对于常用的原核及真核表达系统而言，无细胞表达系统能更快速地生产蛋白，且抛开了培养细胞、转染等繁复的步骤，过程更简单，但不足是产量有限。最近，康奈尔大学的罗丹（音译）及其研究小组开发出一种方法，能让无细胞蛋白生产更高效。

他们过去曾利用支链的 DNA 分子来制作水凝胶（hydrogel）。现在他们将这种新型的水凝胶首次应用到无细胞蛋白合成中。研究人员将支链 DNA 和线性的质粒连接作为部分的凝胶支架，并利用平的 1 平方毫米模具来制作 20 μm 厚的凝胶垫。随后他们将包含基因的凝胶垫置于含无细胞系统的试验管内，并等待奇迹发生。

罗丹的研究小组利用这种水凝胶方法，合成了 16 种不同的蛋白，其中包括膜蛋白和毒性蛋白。就容积得率而言，他们获得了高达 5 mg/ml 的功能蛋白，效率比溶液中的无细胞合成高了 300 多倍。他们认为转录效率高的原因可能有以下三个。其一，凝胶基质覆盖了基因的自由末端，保护它免收核酸酶的降解。其二，凝胶中的基因浓度可以大大增加，而不会像溶液中那样产生 DNA 沉淀。其三，酶的周转可能更有效，因为酶不再需要扩散到很远去寻找它的下一个底物。

罗丹认为，高通量无疑是这项技术的一个优势。“我们能够大规模地合成蛋白，因为我们不需要培养细胞。”水凝胶系统对生产膜蛋白同样有用，因为增溶的去污剂能直接添加到表达系统中。“这对活细胞来说非常困难，因为去污剂会破坏细胞膜。”研究人员还合成了一种来自蚌类的“胶质”蛋白，它在大肠杆菌中通常会形成包涵体，甚至杀死细胞。

尽管制作凝胶垫需要洁净室和特别的微型模具，但罗丹还是期望将这种方法转变成商业产品。眼下，他还是很乐意协助其他人制作 DNA 水凝胶，用于蛋白生产和其他用途。（生物通 余亮）

原文检索：

A cell-free protein-producing gel

Hisakage Funabashi, Nokyoung Park,
Soong Ho Um, Jianfeng Xu, Dan Luo

Nature Materials 8, 432-437 (29 March 2009)
doi:10.1038/nmat2419 Article

摘要：

Proteins are important biomaterials and are generally produced in living cells. Here, we show a novel DNA hydrogel that is capable of producing functional proteins without any living cells. This protein-producing gel (termed 'the P-gel system' or 'P-gel') consists of genes as part of the gel scaffolding. This is the first time that a hydrogel has been used to produce proteins. The efficiency was about 300 times higher than current, solution-based systems. In terms of volumetric yield, the P-gel produced up to 5 mg ml⁻¹ of functional proteins. The mechanisms behind the high efficiency and yield include improved gene stability, higher local concentration and a faster enzyme turnover rate due to a closer proximity of genes. We have tested a total of 16 different P-gels and have successfully produced all 16 proteins including membrane and toxic proteins, demonstrating that the P-gel system can serve as a general protein production technology.

NIH 如何利用 Acumen 平台进行高通量、高内涵筛选？

药物筛选本身就是一场赌博。在成千上万的化合物库中，要找到真正能与靶点发生阳性作用的化合物可谓大海捞针。如何才能在这场赌博中成为赢家？工欲善其事，必先利其器。选择一个合适的平台，将起到事半功倍的效果。

美国至 TOP 的研究院 NIH（国立卫生研究院）也是全球首屈一指的顶级研究院之列，人人仰望。旗下美国国立卫生研究院化学基因组中心（NCGC）的使命是应用小分子筛选工具来开发化学探针研究工具，应用在蛋白与细胞功能，以及与生理和疾病相关的生物过程的研究上。NCGC 的常规工作之一是进行自动化的高内涵高通量筛选。那么，你一定想知道，这个经济实力雄厚、研究成果斐然、人才济济、设备先进（绝非摆设品！）的顶级研究院选择了怎样的平台？如何进行这种艰苦而乏味的工作呢？

NCGC 公布了一系列高内涵高通量筛选的操作步骤，就让生物通编者带你了解一下其中 NIH 如何在高内涵筛选大的化合物库中应用激光扫描微孔板细胞技术（Laser Scanning Microplate Cytometry）的吧。

什么是激光扫描微孔板细胞技术

高内涵筛选通常离不开微孔板。微孔板读数仪经过不断演化，已经从检测每个孔平均信号的光电倍增管进化到了了解单细胞特征的显微镜样成像系统。目前的微孔板读数仪在读板速度和提取的信息量上差异很大。一端是非常快速的读数仪，对于普通的发光或荧光分析，它能在 1 分钟内捕获板上的数据。此类读数仪在数据收集速度上有着额外的优势，不依赖于孔密度。然而，这些读数仪只测量每孔中细胞群体产生的总体信号。另外，它们的激发

光源和检测系统不够灵敏，不能可靠测量 GFP 这种弱荧光分子。

另一端就是高内涵筛选成像仪，它们能从每个孔的多个细胞中捕获亚细胞水平的高分辨率图像。尽管高内涵筛选读数仪为每个孔提供了丰富的数据，但它们的扫描速度较慢，产生很大的数据文件（高清晰图片，一般为几 MB/每孔），数据收集速度取决于孔密度，不利于高内涵高通量的大规模筛选。并且往往受限于显微镜高倍镜的视野而难于全孔成像。

于是，激光扫描微孔板细胞仪应运而生。对微滴定孔中的荧光细胞进行不依赖于显微镜光学的高精度逐点扫描成像，既可以获得亚细胞水平的高内涵信息，又可避免成像的慢速和大量数据，可进行高内涵和高通量筛选。

其代表就是 Acumen Explorer（TTP LabTech 公司），它提供的读数时间足够满足高通量筛选（HTS），每天能扫描 1536 孔板中的 30 万个样品，同时对单个细胞或其它微米粒子进行多参数的测量。它能用于测量荧光蛋白表达、细胞形状的改变，或简单的胞内重分布事件，如细胞质到细胞核的转位。NCGC 利用 Acumen 平台进行超高通量（UTS）的高内涵筛选，至今已有两年多。

[点击索取高内涵筛选的更多资料！](#)

基本原理

Acumen Explorer 将激光束聚焦在微孔板的底部，进行高分辨率逐点扫描，并利用光电倍增管收集特定波长范围的表面荧光。单孔中每个点的扫描信号集成即可给出有精确细节的模拟图像，单个物体的荧光特性随后被鉴定。由于数据是以一定密度的数据点而非以图像形式储存，不单节省的存储容量，更加快了速度，同时也突破了高倍显微镜视场的限制，获得全孔扫描图像。**X** 轴的分辨率是以预设的间隔（0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 或 5 μm ）设定的，而 **Y** 轴是用户自行设定的，一般在 1 到 10 μm 。在 1 \times 8 μm 分辨率下，读取速度为 200 个全孔/分钟，1536 孔板的读取时间大约只需 10 分钟。**Acumen** 提供 4 色荧光分析，可适用于多种用途，488 nm 激光适合于激发 GFP 分析。

保存的成像数据量可根据你的需要而确定：对于鉴定分析表型的关键目标特征，分析开发模式可捕获高密度的信息；然而，对于筛选，HTS 模式只收集关键的分析参数，从而将文件大小压缩了几百倍，对于 1536 孔的 1 \times 8 μm 全孔扫描，数据小于 200 KB。这样，后续的文件存储就不再是令人头疼和烧钱的问题了。

Acumen 可谓是高通量和高内涵筛选的融合之作，即可作为初筛平台也可以作为次筛平台。一方面以逐点扫描代替显微镜成像，多数情况下可在获得较高分辨率的亚细胞信息（模拟图像与真实图像相当接近），又可以较快的速度和较高的通量进行筛选，避免传统微孔板读板机缺乏细节的缺憾，更多细节信息减少了假阳性假阴性的问题。初筛和次筛之后筛选目标更加明确，可进一步进行高内涵分析。

NIH 之选

NCGC 的研究人员利用激光扫描细胞技术，开发出几种细胞分析的方法。其中一种是重分布分

析，另一种是蛋白片断互补分析（PCA）。下文描述了分析步骤及部分筛选数据。

1536 孔板分析优化与筛选的基本步骤



糖皮质激素受体-GFP 核转位分析

糖皮质激素受体（GR）重分布分析能够利用 GR-GFP 融合，观察到糖皮质激素受体从细胞质到细胞核的转位。糖皮质激素受体通常位于细胞质中；然而，诸如地塞米松之类的配体会引起它核转位。由于功能激动剂和拮抗剂都能诱导核转位，因此这个分析只能检测配体，而不管它们在基因表达上的作用。基于这个原因，核转位测量是广泛筛选核受体的配体化合物文库的理想分析。

筛选的分析步骤（1536 孔板）

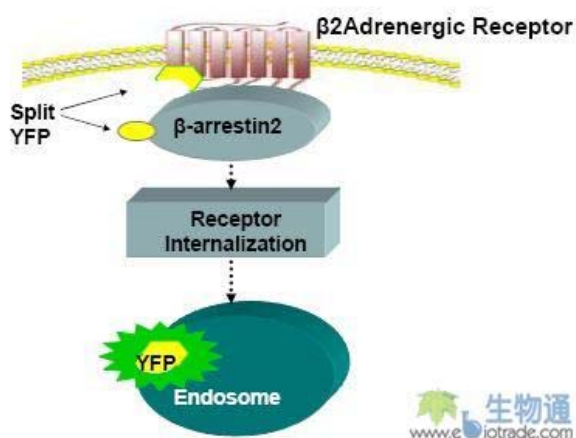
顺序	参数	值	描述
1	试剂	5 μl （600 个细胞/孔）	U2OS 细胞
2	时间	过夜	37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2
3	筛选化合物	20 nl	40 μM -0.5 nM
4	对照化合物	20 nl	地塞米松
5	时间	2 小时	37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2
6	试剂	3 μl	1.5 μM 溴化乙锭
7	检测器	GFP 强度	Acumen

研究人员共鉴定出 27 种活性物质，它们的 AC50 在 12 μM 以下。在 LOPAC 库中注释为糖皮质激素的 10 种化合物都是活性物质，包括激动剂和拮抗剂。在更高浓度，还发现了其他类的活性化合物，包括注释为磷酸酶抑制剂和 G 蛋白偶联受

体的配体。这些化合物可能靶定了糖皮质激素功能或转位的信号通路成分。

蛋白片断互补分析

蛋白片断互补分析 (Protein fragment Complementation Assay, PCA) 包含两种非荧光 GFP (或 GFP 变异体) 片断, 与细胞内的目的蛋白融合。在胞内蛋白非共价结合之后, GFP (或变异体) 片断融合, 发出荧光。PCA 应用于 β -抑制蛋白和 $\beta 2$ 肾上腺素受体 ($\beta 2AR$) 的结合上, $\beta 2AR$ 上融合了突变 YFP 的一个片断, 而 β -抑制蛋白融合了互补片断 (图 1)。经过激动剂刺激, $\beta 2AR$ 被 GPCR 激酶磷酸化, 促使它与 β -抑制蛋白的结合增强。在这个分析中, β -抑制蛋白与 $\beta 2AR$ 的相互作用让 YFP 片断结合并折叠, 产生了可定量的荧光信号。



筛选的刺激步骤 (1536 孔板形式):

顺序	参数	值	描述
1	试剂	5 μ l (700 个细胞/孔)	$\beta 2AR$ 细胞
2	时间	过夜	37°C、5% CO ₂
3	筛选化合物	20 nl	40 μ M-0.5 nM
4	对照化合物	20 nl	激动剂 (AC100)
5	时间	1.5 小时	37°C、5% CO ₂
6	试剂	1 μ l	0.2 mM 萘酚蓝黑
7	检测器	GFP 强度	Acumen

筛选的抑制步骤 (1536 孔板形式):

顺序	参数	值	描述
1	试剂	5 μ l (700 个细胞/孔)	$\beta 2AR$ 细胞
2	时间	过夜	37°C、5% CO ₂
3	筛选化合物	20 nl	40 μ M-0.5 nM
4	对照化合物	20 nl	激动剂(AC50)、拮抗剂(AC100)
5	时间	1.5 小时	37°C、5% CO ₂
6	试剂	1 μ l	0.2 mM 萘酚蓝黑
7	检测器	GFP 强度	Acumen

筛选中鉴定出最有效的化合物是 $\beta 2AR$ 的已知激动剂或拮抗剂。LOPAC 库中包含了 47 种激动剂和 35 种拮抗剂, 它们被注释为肾上腺素受体的配体。在鉴定的 19 种 AC50< 肾上腺素受体激动剂。对于拮抗剂, 共鉴定出 15 种 AC50 α 10 μ M 的肾上腺素受体激动剂中, 18 种注释为 β 肾上腺素激动剂, 而另一种为 < 10 μ M α μ M 的化合物, 其中 14 种是 $\beta 2AR$ 拮抗剂, 而另一种注释为 肾上腺素亚型特异的。综上, 这些结果表明分析准确定义了大部分已知肾上腺素配体的药理学。 α AC50 阈值, 20 种拮抗剂未鉴定出, 而 19 种注释为

从理论上来说, 拮抗剂分析能同时鉴定激动剂和拮抗剂。然而, 研究人员发现拮抗剂筛选不能像激动剂筛选一样有效地鉴定 $\beta 2AR$ 激动剂。例如, 有效的 $\beta 2AR$ 激动剂异丙肾肾上腺素在激动剂形式中 AC50 为 16 nM, 但在拮抗剂形式中, 刺激信号只让活性略微增加 (数据未显示)。因此, 为了确保准确地鉴定激动剂和拮抗剂, 两种形式的分析都必须进行。

总结

如果想让 Acumen Explorer 具有最佳分析表现, 就需要降低背景荧光、让信号最大化、选择合适的细胞密度和目标特征。研究人员发现分析质量的最大改善是通过降低背景荧光实现的。在 GR-GFP 分析中, 洗涤贴壁细胞能有助于降低背景

荧光。而对于 $\beta 2AR$ 分析中的弱贴壁细胞，洗涤显然不合适，那么可以在孔中加入荧光吸收染料-萘酚蓝黑。

NCGC 的研究人员认为，激光扫描微孔板细胞技术是一种强大的技术，能实现类似传统流式细胞仪的细胞分析。尽管它的激发和发射通道不及流式细胞仪多，但该系统在化合物筛选上有着重要的优势。这种技术能直接检测贴壁细胞的荧光信号，这正是无数筛选分析的基础。此外，Acumen 可与标准的机器人筛选系统轻松整合，来实现大型化合物库的筛选，每天筛选数量能高达 30 万个样品。

如果将 Acumen 与 CCD 显微镜系统整合，共同应用于筛选过程中，那么它将如虎添翼。Acumen 可先以高通量和高内涵的模式鉴定活性孔，接着用 CCD 显微镜对这些孔进行高分辨率的成像。在 GR-GFP 的分析中，Acumen 根据胞质到核的转位来鉴定活性物质，而成像仪则通过更精细的核定位模式再进行细分。这种整合的检测系统将在高内涵高通量筛选系统的表型分析中大展拳脚。

背景资料

著名的实验仪器厂商 TTP LabTech 公司将创新的 Acumen eX3 推向全球市场以来，Acumen 已经成为对高涵量药物筛选进行高通量分析的市场领先者，主要安装在多个跨国制药企业研发中心和国家级的科研机构，其中中国办事处自 2008 年设立以来已经在国内市场售出了 5 台。Acumen 现在发展到的第三代产品已为那些需要进行多重荧光分析和提高细胞荧光分析通量的机构建立了可靠的行业标准，并使这些分析更容易进入初筛领域。

Acumen 高内涵高通量平台的应用

TTP LabTech 的 Acumen eX3 为基于细胞的分析筛选提供了非常灵活的方法。这种技术产生了

高通量、高涵量及高度多元化的数据，广泛适用于各种生物分析。

Acumen eX3 已被应用于药物开发进程的各阶段，并凭借它的灵活性优势被广泛应用于多种生物学应用中的定量分析中，包括毒性检测、病毒传染性、细胞周期、细胞增殖、蛋白激酶活性和报告基因分析。

技术应用范围包括：

脂肪生成	凝集素结合
血管生成	脂肪累积
凋亡	有丝分裂指数
细胞粘附	迁移
细胞周期分析	P-糖蛋白
线虫分型	吞噬作用
细胞分化	磷脂沉积
细胞增殖	蛋白激酶图谱
细胞伸展	蛋白转位
克隆形成	蛋白酶体分析
细胞毒性	报告基因激活
GPCR 筛选包括：	RNAi 文库图谱
--- Bioimage 公司	脂肪变性
Redistribution®高涵量路径分析中侦测细胞内蛋白质转位的专利技术	干细胞分型
--- Transfluor® GPCR 药物开发技术	组织扫描和成像
--- β -内酰胺酶	
杂交瘤筛选	病毒感染性

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

地址：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

网址：www.ttplabtech.com.cn

迅速实现基因沉默的新工具

Sigma-Aldrich 公司近日在全球推出 MISSION® esiRNA，一种基因特异的 siRNA 库，它为哺乳动物细胞中的 RNAi 筛选提供了一种强有力的方法。与传统的合成 siRNA 不同，esiRNA 集合了数百个针对单个基因靶点的 siRNA。这种新工具能避免鉴定有效 siRNA 的反复试验过程，迅速实现基因沉默，并确保脱靶效应最低。

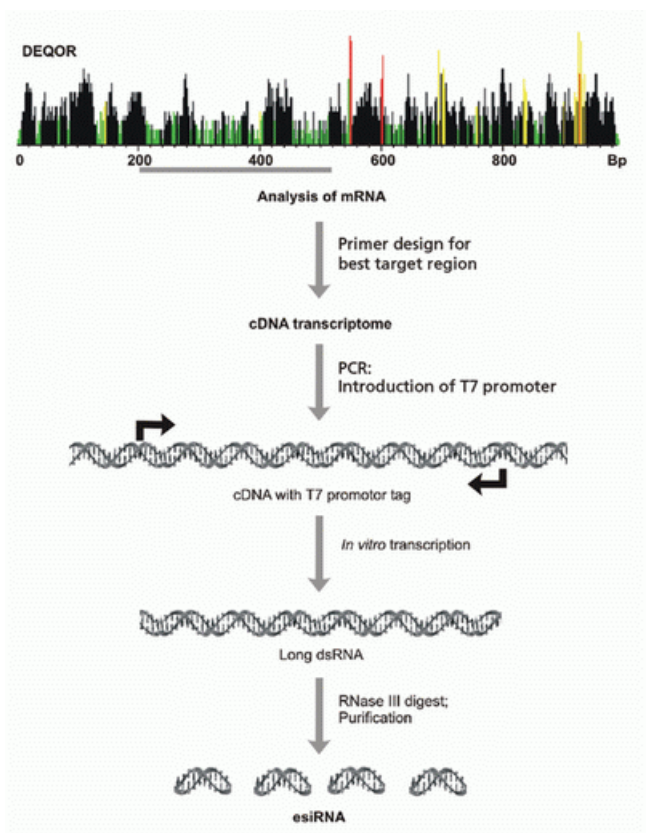
此项技术与传统的单个 siRNA 介导的基因 knockdown 相比，优势相当明显。以前，我们需要反复试验，来鉴定出最有效的 siRNA，现在有了这个 siRNA 的“超级库”，这一步都省了。此外，esiRNA 还能确保最低的脱靶效应。esiRNA 是由德国马普学会细胞生物学和遗传学（MPI-CBG）开发的。

MPI-CBG 的课题组长 Frank Buchholz 开创了 esiRNA 技术在 RNAi 筛选中的应用。他表示：“我们很高兴能与 Sigma-Aldrich 合作，让整个学术界都能享有 esiRNA 技术。10 年前，esiRNA 在美国旧金山加州大学的 Mike Bishop 实验室中发明。自此，它就成为我的研究重点。Sigma-Aldrich 在 RNAi 方面的丰富经验和产品线是我们生产高效特异 esiRNA 的完美补充。”

哈佛大学医学院正在运用 esiRNA 来协助鉴定促使 HIV 增殖的人类基因。临床研究员 Abraham Brass 博士认为 MISSION esiRNA 的初步试验结果表明多个基因都能被非常有效地 knockdown。哈佛医学院很快将会把此项技术整合到多项研究中。

esiRNA 是由核酸内切酶制备的（下图）。首先用特异的引物扩增最佳的靶区域。序列经过验证后，利用 RNA 聚合酶产生 300-600 bp 基因特异的双链 RNA，随后用核酸内切酶切割产生短的

dsRNA。这些类似 siRNA 的分子经过纯化，就形成了 siRNA 库，它们靶定了单个基因的不同序列。



MISSION esiRNA 具有下列优势：

- 针对每个基因靶点的 MISSION esiRNA 超级库
- 快速经济地完成初次筛选
- 有效的基因沉默
- esiRNA 的 knockdown 效率高于 70%
- 脱靶效应更低

- 大型 RNAi 筛选研究的费用更省

目前, MISSION esiRNA 有以下几种规格, 满足不同实验的需求:

1. MISSION esiRNA 人基因组规模库, 覆盖 12000 多个基因靶点
2. MISSION esiRNA 人激酶库, 覆盖 500 多个基因靶点
3. 定制 MISSION esiRNA 库 (20 ug), 适于 10 到 1000 个基因靶点
4. 单个 MISSION esiRNA (20 ug 或 50 ug), 适于 1 到 10 个基因靶点

[点击此处获取MISSION esiRNA的更详细资料及报价!](#)

MISSION esiRNA 的相关文献:

Theis, M. et al. Comparative profiling identifies C13orf3 as a component of the Ska

complex required for mammalian cell division. *EMBO J.* Apr 23 (2009). [Epub ahead of print] [Abstract](#)

Ding, L. et al. A Genome-Scale RNAi Screen for Oct4 Modulators Defines a Role of the Paf1 Complex for Embryonic Stem Cell Identity. *Cell Stem Cell.* Apr (2009) [Epub ahead of print] [Abstract](#)

Kittler, R. et al. Genome-scale RNAi profiling of cell division in human tissue culture cells. *Nat. Cell Biol.* **9**, 1401-12 (2007). [Abstract](#)

Kittler, R. et al. An endoribonuclease-prepared siRNA screen in human cells identifies genes essential for cell division. *Nature* **432**, 1036-40 (2004). [Abstract](#)

(生物通 余亮)

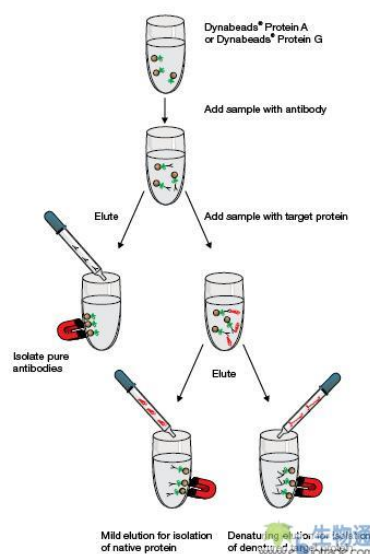
是时候升级你的免疫沉淀啦

你还在用蛋白 A 琼脂糖吗？此方法虽流传已久，但容易造成样品损失或缓冲液残留。为此，Invitrogen 公司新推出了依靠磁力的 Dynabeads® Protein A/G 免疫沉淀试剂盒，不仅解决了这两大问题，更是将免疫沉淀的时间缩短至 30 分钟。

现在，你只需一个 Dynabeads® Protein A/G 免疫沉淀试剂盒，一个特异的抗体，一个磁力架就能完成免疫沉淀了。和层析柱、过滤器、离心机说拜拜吧。此外，磁力架的磁铁是在侧面，而不是底部，这样就避免了移液时误吸样品或缓冲液残留，保证缓冲液一滴不剩，消除非特异结合的背景，得到更加一致的结果。磁珠上重组的 Protein A/G 不含有白蛋白的结合位点，于是避免了杂蛋白的纯化。

Dynabeads®所介导的免疫沉淀不仅快速，而且温和，对靶蛋白的物理应力最小。你的靶蛋白再也无需进入树脂的内部。温和的磁性操作能分离不稳定的复合物，否则，长时间的孵育可能会让它解离或受蛋白酶的破坏。天然蛋白和大蛋白复合物都能够悉数保留。它适用的起始样品包括唾液、血浆、腹水、血清、组织培养物和杂交瘤上清。

快速的反应动力学和短暂的孵育时间让免疫沉淀过程缩短至 30 分钟。整个过程在单管中即可完成，步骤也相当简单，详见下图。而且试剂盒中的缓冲液都是即用型的，免除了乏味的溶液配制过程。整个操作也很容易升级到自动化的液体处理平台。



Dynabeads® Protein A/G 免疫沉淀试剂盒的特点：

- 比传统 Sepharose/agarose 方法节省 3/4 的操作时间
- 有效分离完整的蛋白和蛋白复合物
- 新的磁珠保证了高结合能力并消除非特异结合所导致的背景
- 预制缓冲液，保证实验结果稳定一致
- 小型 IgG 纯化和免疫沉淀实验的最佳选择
- 无需层析柱、离心及费时的样品预处理

[点击索取更多有关免疫沉淀的产品资料！](#)

即日起到 9 月 15 日，购买 Dynabeads® Protein A/G 免疫沉淀试剂盒（货号：100-06D 或 100-07D），即可享受 5 折购买 DynaMag™-2 或 DynaMag™-Spin 磁力架 1 个的优惠，千万别错过哦！

（生物通 余亮）

克隆喷一喷 新型 IPTG-X-Gal 喷雾

你是不是已经厌倦了蓝白斑筛选时，每次都要加 IPTG 和 X-Gal，弄得手忙脚又乱的？现在，好东西来了。Axygen 公司推出史上第一瓶 IPTG-X-Gal 喷雾，一切都变得简单了。你不再需要称量、移液、混合或涂布，只要在琼脂糖平板上喷、喷、喷，3 次即可。

IPTG-X-Gal 喷雾是一种方便的即用型溶液。喷头体积精确，不仅能确保每次 IPTG-X-Gal 的体积最佳，而且还保证了平板之间的一致性。X-Gal 不是不太稳定吗？这一点 Axygen 当然也想到了，瓶身是棕色的，且加入了独特的稳定剂，确保了 X-Gal 和 IPTG 的稳定性，喷雾在 4°C 能存放 6 个月。每一瓶喷雾为 20 ml，足够 100 个标准大小平板的使用。



使用起来非常简单。将喷雾与平板保持一定距离，喷 3-4 次（约 200 μ l）即可，这相当于每块平板上有约 1.3 mg 的 X-Gal 和 IPTG。然后让平板自然风干，不必使用涂布棒。不过如果平板太过于干燥，吸收溶液迅速时，就需要将溶液涂布均匀。

如果你对 Axygen 的印象还停留在枪头，那就有些过时了。Axygen 的强项其实是蛋白结晶学，它有着一系列的仪器、试剂和耗材，例如全自动的高速蛋白晶体成像仪、蛋白结晶板及各种缓冲液。另外，它还提供了多种核酸纯化试剂盒及 DNA Marker。最近还推出了 Axyprep miRNA miniprep kit，能从动植物组织、细胞中直接提取 microRNA。

IPTG-X-Gal 喷雾的特点：

- 轻松、准确、方便
- 喷雾带来最佳的浓度和体积，让结果一致、准确
- 无需称量 X-Gal 和 IPTG，并配制溶液，省时省力
- 独有的稳定剂混合物，确保喷雾能在推荐条件下储存 6 个月

（生物通 余亮）

Clontech 推出两款纳米转染试剂

转染试剂的市场还真是红火。这边厢 Invitrogen 刚推出 Neon 转染系统，那边厢 Clontech 又添两款转染试剂——Xfect™和 Xfect™ Stem。这些新型的转染试剂来自可生物降解的纳米颗粒，能让质粒 DNA 高效转染到哺乳动物细胞。为了使用更方便，转染能在血清存在下进行。Xfect 适用于广泛的细胞类型，而 Xfect Stem 则专用于小鼠胚胎干细胞转染。

转染是众多基础和应用研究中的关键步骤。基因调控、蛋白表达及功能、转基因等研究都离不开转染。麻省理工大学的科学家筛选了 2300 多种候选聚合物，鉴定出转染效果杰出的新型可生物降解的纳米颗粒。Clontech 拥有 MIT 的专利许可，故将两种化合物优化，创造出今天的 Xfect 和 Xfect Stem 试剂。

Xfect 转染试剂适用于大部分细胞类型。经过测试，它在一些常用的细胞系，如 HeLa、HEK-293、CHO-K1 和 HT1080 细胞中都有着 80% 以上的转染效率。对于难转染的细胞，如 Jurkat 细胞，它比竞争产品的转染效率高出 40 倍。此外，Xfect 毒性也较低。以往，由于转染试剂不能耐受血清，转染过程中还得换成无血清培养基，甚是麻烦。Xfect 则不受血清的影响，转染全程都可以有血清的存在，使用更方便。

Xfect Stem 转染试剂则是专为小鼠胚胎干细胞的转染而设计的。胚胎干细胞的研究持续升温，但转染始终是个令人头疼的问题。胚胎干细胞似乎“百毒不侵”，抗拒着外来的 DNA。Xfect Stem 则是从 2300 多个候选者中脱颖而出的佼佼者，在干细胞转染上有着不俗的表现。经过验证，它在小鼠胚胎干细胞系 E14TG2A 和 D3 中的转染效率均高于市场上畅销的其他试剂。

如果你的细胞是很容易转染的细胞系，那么简单，fugene、lipo 这些都合适。如果你的细胞系有点顽固，恭喜你，现在又有了两个新选择。想要索取更详细的资料或报价，请[点击此处](#)。

（生物通 余亮）

Invitrogen 推出 HLA 检测的新芯片系统

Invitrogen (现属于生命科技公司) 近日推出最新的自动化芯片系统, 用于免疫遗传学检测, 包括人白细胞抗原 (HLA) 的研究。Prodigy™ 系统是一种高级的 DNA 和蛋白分析工具, 能简化并加速组织相容性研究、疫苗和药物开发, 以及疾病相关的研究。



Prodigy™ 系统是第一个高通量、序列特异性的寡核苷酸探针系统, 能简化 HLA 检测的复杂性。HLA 标志物是细胞表面蛋白, 在人类免疫系统中起了重要的调节作用。当身体受到外源蛋白或分子如细菌、病原体和病毒的侵袭时, 它们充当了警报的角色。

与市场上的其他系统相比, Prodigy 系统有着一些独特的技术改进。它的密度是目前磁珠分析的 5 倍, 而且支持一键式的无人值守自动化, 使研究人员能将宝贵的时间花在数据处理或制备更多样品上。Prodigy 的内在可扩展性使它能够对 500 多个分析物进行多重分析, 同时提供高分辨率和无与伦比的可靠性。

它的通量也是行业领先的, 能在 9 小时内获得约 290 个基因型, 并包含了集成软件, 能简化数据分析和说明。由于具有 500 多个分析物的分析能力, Prodigy 系统还能在未来容纳新的基因型, 使它能够与现有设备轻松整合。

Prodigy 的工作流程只是简单的 5 步: (1) 生成工作表; (2) PCR 准备与扩增; (3) 将扩增物和试剂加入仪器, 按下开始的按钮, 然后离开; (4) 仪器自动运行分析, 对芯片成像并处理数据; (5) Prodigy HLA 分析软件将数据转化成基因型。

Prodigy 系统的特征:

- 用户友好的触摸屏, 用于仪器的设定
- 集成照相机对芯片进行快照, 并转移到软件分析
- 芯片的容量是目前磁珠的 5 倍
- 条形码阅读器能识别胶条的批号, 便于追踪
- 每次能运行 1-12 个胶条, 8-96 个样品
- 所有基因座的相同 1.5 小时扩增策略
- 体型小巧, 占地面积少

[点击索取Prodigy系统的更多资料。](#)

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 2008 年的销售额超过 30 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)

QIAGEN 率先推出快速多重定量 RT-PCR 试剂盒

定量 RT-PCR 反应的趋势是不断减少反应体积，同时在一管内包含对照和靶分子，但又不损害整体的表现。为了满足这些目标，QIAGEN 近日推出 QuantiFast® Multiplex RT-PCR Kit 和 Rotor-Gene® Multiplex RT-PCR Kit。QuantiFast 试剂盒是率先进入市场的快速多重实时定量 PCR，可在标准和快速定量 PCR 仪上运行，无需优化。Rotor-Gene 试剂盒适合在 Rotor-Gene Q 仪器上运行，能够检测单管中的 4 个靶分子。

基因表达和功能分析在很多领域中扮演着重要角色，如癌症研究、生物标志物的鉴定、靶分子验证和药物开发。对研究人员来说，最重要的是在最少的时间和投入下，获得准确的实时定量 PCR 结果。这些创新的快速定量 PCR 技术不仅为快速循环仪带来了速度和准确性，标准循环仪同样能够实现。对于基因沉默之类的应用，整个定量 PCR 流程简化了，无需纯化 RNA，单管中能分析多个靶分子。

应用 QuantiFast Multiplex RT-PCR Kit 可在单管内通过多重一步法实时定量 RT-PCR 对多达 4 个 RNA 进行快速、可靠的定量分析。特制的逆转录酶混合液可快速、高效合成 cDNA，经优化的预混液确保在任何定量 PCR 仪上进行快速的多重 PCR 分析，不会影响表现。平衡的离子组合以及独特的合成因子 MP 可促进稳定、高效的引物和探针退火，而专利申请中的 Q-Bond 可明显缩短循环时间。此外，HotStarTaq Plus DNA Polymerase 确保高度严谨的热启动。

Rotor-Gene Multiplex RT-PCR Kit 专用于 Rotor-Gene Q 和其他 Rotor-Gene 热循环仪，可超快速进行探针法的一步法多重实时定量 RT-PCR 分析。通过调整热循环仪，可在同一个管子内同步定量分析多至 4 个 RNA 靶分子（如 1 个对照和 3 个靶基因）。配合经优化的预混液和独特的转子离心设计的 Rotor-Gene 热循环仪运行，表现卓越。

QIAGEN 还新推出了基因表达分析中的另一个核心元件——TissueLyser LT。此仪器利用微珠研磨技术来裂解组织，并快速得到 DNA、RNA 和蛋白。这种小型易操作的微珠研磨最多能平行处理 12 个样品，无论是新鲜或冷冻。对于某些敏感的应用如植物裂解，还能在低温下操作，以避免降解。12 个样品形式对于目前 QIAGEN 自动化的用户而言，还有额外的好处，那就是将样品裂解与其他自动化产品无缝整合，诸如纯化用的 QIAcube 或分析用的 QIAxcel。

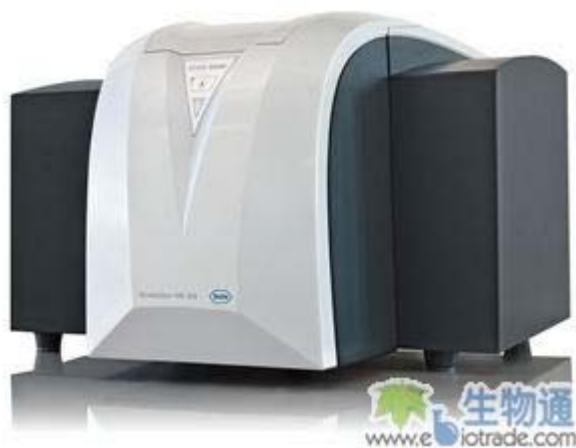
如果你想索取上述产品的详细信息或报价，请[点击此处](#)。

（生物通 余亮）

释放芯片的全部潜能——罗氏推出 高分辨率芯片扫描仪

Roche NimbleGen 近日推出一款高分辨率的芯片扫描仪—— NimbleGen MS 200 Microarray Scanner。MS 200 是第一款能从所有 NimbleGen DNA 芯片中捕获完整图像，并释放全部潜能的扫描仪。

高灵敏度的扫描仪以低至 2 μm 的像素分辨率重复获取双色的图像数据，并产生高质量的图像文件用于后续的数据分析。为了满足当今高通量的需求，MS 200 具备了几个关键特征，实现了无人值守的扫描和过夜运行，是一台完全自动化的系统。这些特征包括多达 48 个芯片的自动上样、先进的动态自动聚焦以获取更清晰的图像等。此外，高信噪比、内部校准、集成的条形码阅读器，以及臭氧还原特征确保了每次扫描的高数据质量和可信度。



MS 200 芯片扫描仪的特点：

- 2 μm 像素分辨率，扫描高密度 NimbleGen DNA 芯片效果更佳
- 自动上样器能在 24 小时无人值守操作下自动上样 48 块玻片
- 高信噪比，获得高质量数据和可信结果
- 集成的条形码阅读器用于样品鉴定和追踪

- 先进的动态自动聚焦和自动获取
- 内置的 QC 参照玻片，轻松校准
- 可升级，确保与今天的 NimbleGen 高密度芯片以及明天的超高密度芯片兼容

[点击索取MS 200 芯片扫描仪的更多资料！](#)

随着 MS 200 Microarray Scanner 的上市，Roche NimbleGen 现在拥有一个完整的芯片流程，用于比较基因组杂交（CGH）、ChIP-chip、DNA 甲基化和基因表达分析。这个优化的流程覆盖了高密度 NimbleGen 芯片、杂交系统、芯片烘干机、MS 200 芯片扫描仪、NimbleScan 和 SignalMap 软件，以及种类齐全的试剂盒及耗材。

罗氏NimbleGen公司拥有DNA芯片、消耗品、仪器和服务等一系列专利，是领先的创新者、制造商和供应商。罗氏NimbleGen公司生产长寡聚探针的高密度芯片，为研究基因组和表观基因组变异的全部多态性，提供了更完善的信息内容和更高的数据质量。罗氏 NimbleGen 公司的专利技术 Maskless Array Synthesis (MAS) 用数字灯光加工和快速高效的光化学，以极大的灵活性来合成长寡核苷酸、高密度DNA芯片，使得性能的提高成为现实。欲了解更多关于罗氏NimbleGen公司的信息，请访问该公司网站www.nimblegen.com。

（生物通 余亮）

且看 Broad 研究院如何填补基因组中的缺口

麻省理工大学和哈佛大学 Broad 研究院的基因组测序和分析计划的研究人员最近开发了一种方法，来填补常染色体上非结构性的缺口。

Manuel Garber 领导的研究小组利用 454 测序平台，对人类基因组上的 III 类缺口（Class III gaps）进行测序。III 类缺口是非结构性的，而传统的细菌克隆测序方法并不奏效。研究人员利用 454 测序填补了人 15 号染色体上的三个缺口。利用这种新方法，他们有望关闭人染色体上的剩余 127 个 III 类缺口。

研究人员所使用的拼接缺失序列的技术是由罗氏 454 生命科学开发的。Garber 的小组采用了 454 测序，而不是传统的需要细菌克隆的 Sanger 测序。454 测序与传统 Sanger 测序法的关键区别在于 454 的过程不需要细菌克隆。研究人员推断，过去未能关闭缺口是由于大肠杆菌载体系统对缺口序列克隆的偏见。“克隆步骤需要将目的片段放在细菌中复制，但我们直接用 PCR 从基因组 DNA 中扩增了这些片段，并根据 454 的操作步骤来进行测序。”Garber 说道。他们设计了六对跨越基因组缺口的引物，在测序之后填充上缺失的部分。

测序过程是在 Genome Sequencer FLX 系统上完成的。在测序之前，先要准备好 DNA 样品。DNA 被打断，并形成单链，然后在磁珠上同时进行多个乳液 PCR。携带有合成长链的磁珠随后置于 PTP 板上，进行测序。

这种测序方法能够得到整个人类基因组。Garber 强调混合测序的方法能够产生高质量的基

因组。此方法还能应用到其他已完成或即将完成的基因组如小鼠和狗基因组上，来填补其中的缺口。

详细的操作步骤及实验结果刊登在 2009 年 6 月 2 日的《Genome Biology》上，请点击文章标题查看原文。（生物通 余亮）

原文检索：

[Closing gaps in the human genome using sequencing by synthesis.](#)

Garber M, Zody MC, Arachchi HM, Berlin A, Gnerre S, Green LM, Lennon N, Nusbaum C
Genome Biol. 2009 Jun 2;10(6):R60.

摘要：

The most recent release of the finished human genome contains 260 euchromatic gaps (excluding chromosome Y). Recent work has helped explain a large number of these unresolved regions as 'structural' in nature. Another class of gaps is likely to be refractory to clone-based approaches, and cannot be approached in ways previously described. We present an approach for closing these gaps using 454 sequencing. As a proof of principle, we closed all three remaining non-structural gaps in chromosome 15.

高灵敏度化学发光仪 ChemiDoc XRS 应用心得

作者：黄磊

一. 概述

化学发光 (ChemiLuminescence, 简称为 CL) 分析法是分子发光光谱分析法中的一类, 它主要是依据化学检测体系中待测物浓度与体系的化学发光强度在一定条件下呈线性定量关系的原理, 利用仪器对体系化学发光强度的检测, 而确定待测物含量的一种痕量分析方法。化学发光与其它发光分析的本质区别是体系产生发光 (光辐射) 所吸收的能量来源不同。体系产生化学发光, 必须具有一个产生可检信号的光辐射反应和一个可一次提供导致发光现象足够能量的单独反应步骤的化学反应。

化学发光 Western 杂交检测, 是同位素检测的一种高度灵敏的替代方法。酶标记抗体取代了放射性标记抗体, 当它作用于底物时, 可产生光信号。多数特异抗原检测方法以辣根过氧化物酶 (HRP) 或碱性磷酸酶 (AP) 二级抗体 耦联物为基础。信号可通过感光胶片或专用的成像设备来采集。化学发光底物用于免疫印迹技术已有十几年的历史, 目前大部分实验室做转印时都会采用化学发光技术进行检测。随着冷 CCD 化学发光检测技术的发展, 现在越来越多的实验室都开始采用冷 CCD 的凝胶成像系统进行化学发光的检测, 胶片成像虽然比自然发光法灵敏度更高, 但也有很多缺点: 耗时, 需要暗房, 显影剂和胶片, 胶片较贵且为需持续购买的消耗品。同时由于胶片的线性范围较窄, 因此用胶片上的条带 (特别是表达量较低的条带) 进行定量几乎不可能。冷 CCD 技术与 X 胶片相比具有瞬时影像处理、高灵敏度和高分辨率、动力范围广等优点, 因此能对条带进行精确定量。当然这项技术要求底物能产生高强度长持续时间的信号, 以保证信号能被冷 CCD 的凝胶成像系统捕获。在这方面多家公司都提供了相应的化学发光底物或试剂盒, 特别是 Bio-Rad 公司提供的 Western-C 化学发光检测试剂盒, 底物可产生高强

度的持续光信号 24 小时, 因此用户可以进行多次曝光, 最低可检测至 10-19mol, 配合 Bio-Rad 屡获大奖的化学发光成像系统 ChemiDoc XRS 或 VersaDoc 系统能得到高质量的印记信号。

我们实验室从 05 年开始采用 Bio-Rad 的 ChemiDocXRS 进行化学发光的检测, 目前已经形成一套较为成熟的技术路线, 取得大批的实验数据。本文将就 Western Blotting 的关键步骤及使用 ChemiDocXRS 的一些心得体会与大家一起分享。



ChemiDoc XRS system

[了解ChemiDoc XRS系统的更多信息!](#)

二. 转印过程

转印蛋白的方法有多种，最常用的是电泳转印方法，该技术具有快速、有效、并保持蛋白在凝胶中高分辨率的特性。电泳转印技术是指在凝胶中分离的蛋白质向印迹膜载体转印的过程。由于该技术可以准确、快速、高效的将蛋白转印到膜上，并可以保持蛋白在凝胶中高的分辨率，而被广泛的应用于转移印迹技术中。

常用的电泳转印系统有槽转印系统和半干转印系统，前者是将凝胶和印迹膜浸入转印缓冲液槽，然后加电压进行转印；后者是将凝胶和印迹膜放置于滤纸间形成三明治结构，而后在电极平板间进行转印。两种系统间的比较见表 1.1

表 1.1 电泳转印系统的比较

	槽转印	半干转印
灵活性	可灵活选择电压设置、转印时间和冷却方法；可灵活更换电极位置（Trans-Blot 和 Trans-Blot Plus 印迹槽）	快速、高强度转印，使用少量电转印缓冲液，无冷却系统
定量和定性结果	小分子量范围可以提供高效而定量的蛋白转印	小分子量蛋白与印迹膜很少结合，发生转印并穿透印迹膜
分子量范围	宽分子量范围	对于分子量大于 120kD 蛋白的转印效率不稳定，小分子量蛋白会转印穿透印迹膜
转印时间	可以在不耗尽缓冲液时延长转印时间到 24h；高强度转印只需 15-60min	快速转印；不适用于延时转印
温度控制	冷却芯和循环冷却水，可以在很低的温度进行转印（4-10℃），例如原酶转印	无冷却系统
缓冲能力	缓冲液 10-12L（Trans-Blot 槽）或 450ml（Mini Trans-Blot 槽）缓冲液不限制转印时间	少量，每次实验只需要 250ml，节约试剂成本和缩短转印时间

电泳转印过程中，凝胶和印迹膜平行放置于两极间。根据欧姆定律（Ohm's）： $V=I \cdot R$ ，R 为两极间物质的电阻值，（即转印缓冲液、凝胶、印迹

膜、滤纸的电阻值），当电极两端加有电压时，就会在上述物质间产生电流，蛋白样品便发生转印。

由于两极间的电场强度（V/cm）是蛋白转移的驱动力，因此两极间的电压和距离称为凝胶上蛋白转印的关键参数。同样其他参数包括蛋白的大小、形状、所带电荷多少，电转印缓冲液的 pH 值、黏度、离子强度、以及凝胶密度也影响着蛋白的电转印效率。

在转印过程中将产生大量热量，因此对电场强度要有一定的限制。转印中产生的焦耳热（Joule）与电源参数 P 成正比， $P=I \cdot V=I^2 R$ 。电泳转印缓冲液的温度随着焦耳热的增加而升高，此时其电阻却明显下降。电阻的降低将会使转印过程和电场强度发生变化，从而影响电转印缓冲液的缓冲能力。同时，系统过热还会引起凝胶的损坏或与印迹膜发生粘连。从而槽体的散热能力将直接影响电泳转印效率。

本室主要以湿转进行转印，因此本文就湿转为例，对化学发光和 ChemiDoc XRS 的应用进行叙述。

一、转膜（湿转）：

(1) 转一张膜需准备 2 张 6.5*10cm 的滤纸和 1 张 5.5*8.5cm 的 PVDF 膜。切滤纸和膜时一定要戴手套，因为手上的蛋白会污染膜。将切好的 PVDF 膜浸于甲醇中不少于 15 分钟才可使用。

(2) 在加有转移液的搪瓷盘里放入转膜用的夹子、两块海绵垫、两张滤纸和浸过的 PVDF 膜。

(3) 打开夹子将黑的一面放入转膜液中，从下往上依次放入海绵、滤纸、分离胶、PVDF 膜、滤纸、海绵。

注意：1 整个过程在转膜液中进行在铺每一层时要用刮子赶气泡，尤其是胶与膜之间一定不能留有气泡。

2 撬玻璃板剥胶时动作要轻,用刮子将浓缩胶轻轻刮去小心剥下分离胶盖于滤纸上,用手调整使其与滤纸对齐

(4) 将夹子合好,放到转移槽槽中,要使夹的黑面对槽的黑面,夹的白面对槽的红面。接通电电转移时会产热,在槽的一边有较大空隙,放入事先准备好的冰盒来降温。将整个电泳槽放入一个大的容器中(大的塑料泡沫盒子最好),在这个容器中盛满冰。

(5) 250 毫安恒流转膜 2 小时。

(6) 2 小时后,将膜取出,用 TBST 洗膜 5 分钟。

(7) 用 5%脱脂奶粉室温封闭。

封闭是为了使抗体仅仅只能跟特异的蛋白质结合而不是和膜结合。

脱脂奶粉要用 TBST 配置,要在干净的容器里进行封闭,且足以覆盖住膜。

二、孵育一抗

一抗用 BSA 溶解,根据抗体说明书上的要求稀释抗体(大部分稀释度为 1: 1000), 4℃过夜。也可根据抗体量和膜上抗原量适当延长或缩短时间。(有些一抗室温孵育一小时也可得到满意的结果)

三、孵育二抗

室温孵育 1 小时。一般采用 HRP 标记的二抗,稀释比例为 1:2000。

二抗的稀释比例不能太低,否则容易导致非特异性的结合。

注意:孵育二抗之前一定要用 TBST 将膜洗三次,每次五分钟,时间一定要够。

洗涤是为了洗去二抗的非特异性结合,洗涤的效果直接影响结果背景的深浅,所以洗涤一定要干净。

四、曝光

本实验室选用威格拉斯“western 发光检测试剂盒”,如采用 Bio-Rad 公司的 Immun-Star WesternC 化学发光试剂盒(已针对 CCD 成像做了优化),可获得更好的效果。

(1) 洗膜, 2 至 3 次, 每次 5 分钟

(2) 在照胶仪放膜的平板上加少许水,取一张与平板大小合适的保鲜膜铺在平板上,排气泡。

作用: a 保证 PVDF 膜能在一个相对干净的平台曝光,避免污染。

b 铺上保鲜膜后,背景颜色是纯黑色且深浅均匀,这样当半透明的 PVDF 膜在白测光下照 Marker 时,会更清晰、明显。

(3) 将膜放入照胶仪,调整明暗、大小、焦距,在目的条带的 marker 出,用圆珠笔标一个印记。

(4) 选择 EPI WHITE 光,点击“White Epi Illumination”点击 Auto Expose 获取 marker 图片,图片最大化,选中图片,选择 file ->export to jpeg, quantity 调至最大值 100,保存至文件夹。保存为 jpeg 格式后,转至其他电脑即使未安装 quantity one 软件也可用其他图像软件编辑图片。

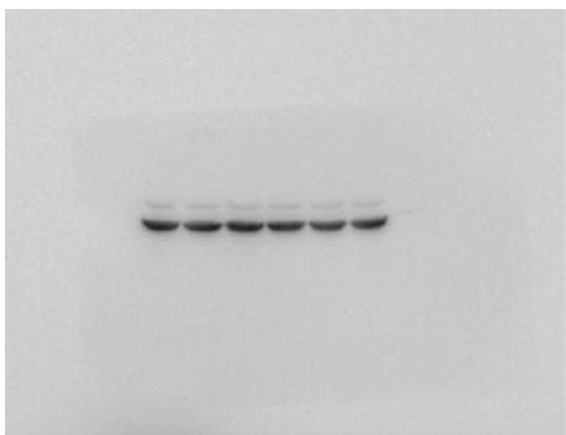
(5) 将发光液 A 液和 B 液按 1: 1 比例混匀、倒在 PVDF 膜上,发光液能盖住膜即可,关闭 WHITE EPI 光(注意膜的位置从照 Marker 开始,不要改变)点击“Chem Hi Sensitivity”,点击“Live Acquire”选择合适的曝光时间,张数,选择指定文件夹,保存。

选择比较满意的图片,按如上所说转换至 jpeg 格式。

例如, Caveolin-3、AKT、ERK、GSK 等比较好曝的,可以调至 10s 一张,一般 10 张之内就可得到好的效果。其他不太容易出条带的,可以适当延长时间。

对于内参来说,在曝第一张之前,让发光液倒在膜上静置反映 20-30 秒,有时会得到理想的效果。

(6) marker 与目的条带的比对:用 window 自带的“图片和传真查看器”软件打开 jpeg 格式的 marker 图片,用手在屏幕上点住刚刚用圆珠笔画的印记,手不要松开,此时还用“图片和传真查看器”打开 jpeg 格式的目的条带的图片,手点的地方就是刚才 marker 的位置。



白测光下获取的 marker 图像 (圆珠笔标记 43KD)



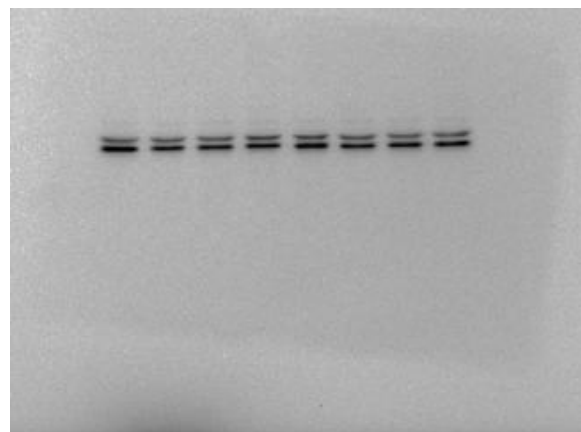
化学发光下目的蛋白条带 (β-actin)

蛋白上样量: 120μg

分离胶浓度: 12%



白测光下获取的 marker 图像 (ERK)



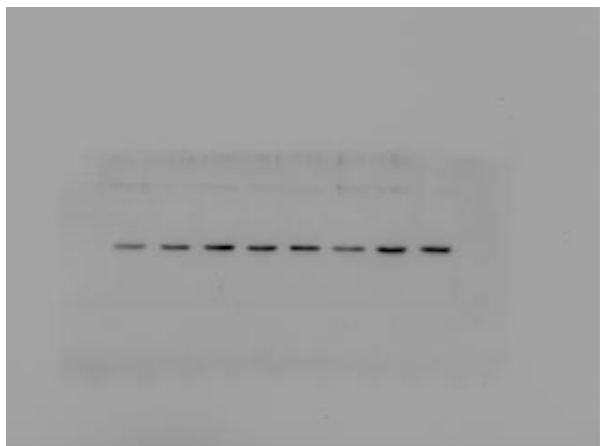
化学发光下目的蛋白条带

蛋白上样量: 80μg

分离胶浓度: 12%



白测光下获取的 marker 图像 (圆珠笔标记 26KD)



化学发光下目的蛋白条带 (ARC)

蛋白上样量: 50 μ g

分离胶浓度: 15%

结论: 采用 Bio-Rad 的冷 CCD 化学发光成像系统进行化学发光的检测, 比传统的暗室曝光方法更为简便, 也大大缩短了实验时间。但在成像时需要注意选择合适的化学发光试剂, 以适合 CCD 的成像检测。且大部分的化学发光试剂均对应暗室曝光的方式, 因此在进行检测需要调整, 如对发光液不能进行稀释, 而必须要使用原液。同时如果条带的表达比较弱的情况下, 如使用常用发光液可

能需要更长的成像时间, 当然更好的方法是选择能快速产生强烈信号的化学发光试剂, 如 Bio-Rad 公司的 Immun-Star WesternC 化学发光试剂盒。

相关仪器及试剂订货信息

170-8251 Molecular Imager
ChemiDocXRS+ System PC

170-8182 XciteBlue Conversion Screen and
viewing goggles for SYBR Green/SYBR Safe/
GFP/ Flamingo Fluorescent Gel Stain

170-8184 Gel Alignment Templates

170-7950 White Light Transilluminator,
universal hood

170-5070 Immun-Star WesternC
Chemiluminescent Kit, includes 50 ml
luminol/enhancer, 50 ml peroxide solution

161-0376 Precision Plus Protein WesternC
Standards, 250 μ l, 50 applications

新加坡基因组研究院联合罗氏 NimbleGen: 追踪甲型 H1N1 流感病毒的进化途径

近期流感病毒的爆发将甲型流感新毒株 (nH1N1) 迅速传播到世界各地。许多专家都在关注这种新毒株的进化途径, 以及它是否会突变或其它流感毒株重组产生更致命的毒株, 如同全球曾经历的 1918 毒株。为了鉴定这些突变与重组, 新加坡基因组研究院的一个研究小组已经开发出新型的“通用”聚合酶链式反应方法, 可扩增任何甲型流感病毒的全基因组, 然后用 NimbleGen 基于芯片的杂交测序, 在大约 24 小时内迅速通览整个基因组 (芯片读取设备每天能读取多达 36 张)。

这种新方法能利用传统 PCR 诊断所遗留下来的相同 RNA 材料, 在第一轮即可识别任何流感新毒株。这将有助于更快速诊断方法的开发, 来应对任何可能的新变异体; 它还能快速鉴定毒株的 DNA 是否突变, 而变得更加危险, 比如产生更强的抗药性。

通过与罗氏 NimbleGen 的科学家紧密合作, 并利用 NimbleGen 平台所赋予的灵活性, 在项目开始仅 4 天后, 第一批芯片已经设计、制造完毕并运抵新加坡。定制开发的高密度芯片具有能从病人样本 (鼻拭子/鼻咽洗液) 中揭示流感病毒完整序列的探针。它将实现基因组区域内任何单碱基突变的检测, 这对药物易感性很重要。一旦病毒发生重组, 它还能鉴定出是与哪种甲型流感毒株进行重组以及重组的基因组位点, 从而更好地了解 and 追踪病毒的进化途径及变异体。

新加坡基因组研究院负责生物标志物开发的首席科学家 Christopher Wong 博士表示: “这种方法利用了我们为检测多种病原菌而开发的新型 PCR 技术。这将大大简化新病毒测序的过程。”

罗氏 NimbleGen 的首席执行官 Gerd Maass 认为: “随着新系统的开发, 整个项目小组希望更好更快地追踪这个新流感变异体, 让世界了解病毒是如何进化的。”新加坡基因组研究院的执行董事 Edison Liu 教授补充道: “这个追踪过程的重要

性应被更好地利用, 因为它提供了重要的信息, 有助于预防和抗争流行病。”

其实利用 NimbleGen 芯片成功检测突发病毒可以追溯到 2003 年 SARS 爆发期间, NimbleGen 芯片采用了相似的方法成功的检测了感染源, 并全球监控 SARS 病毒。

关于罗氏

罗氏始创于 1896 年, 总部位于瑞士巴塞尔, 在制药和诊断领域是世界领先的以研发为基础的健康事业公司之一。作为世界上最大的生物科技公司, 罗氏提供从早期发现、预防、诊断到治疗的创新产品与服务, 在诸多领域都做出了突出的贡献, 从而提高了人类的健康水准和生活质量。罗氏是体外诊断领域、抗肿瘤药品和移植药品的全球领先者, 是病毒学领域的市场领导者。在其它关键疾病领域如自身免疫性疾病、炎症、代谢和中枢神经系统疾病等同样表现活跃。2008 年, 药品部的销售额达 360 亿瑞士法郎, 诊断部的销售额达 97 亿瑞士法郎。2008 年, 罗氏在研发方面的投入超过了 90 亿瑞士法郎, 并与多个合作伙伴建立了研究与开发的业务联盟, 包括罗氏控股的基因泰克和中外制药。罗氏集团共拥有约 8 万名员工。如需了解更详细的信息, 请访问www.roche.com。

关于罗氏 NimbleGen

罗氏NimbleGen公司拥有DNA芯片、消耗品、仪器和服务等一系列专利，是领先的创新者、制造商和供应商。罗氏NimbleGen公司生产长寡聚探针的高密度芯片，为研究基因组和表观基因组变异的全部多态性，提供了更完善的信息内容和更高的数据质量。罗氏NimbleGen公司的专利技术Maskless Array Synthesis (MAS) 用数字灯光加工和快速高效的光化学，以极大的灵活性来合成长寡核苷酸、高密度DNA芯片，使得性能的提高成为现实。欲了解更多关于罗氏NimbleGen公司的信息，请访问该公司网站www.nimblegen.com。

关于新加坡基因组研究院

(www.gis.a-star.edu.sg)

新加坡基因组研究院 (GIS) 是新加坡科技研究局 (A*STAR) 的成员。它是有着全球视野的国家计划，试图利用基因组科学来改善公众健康和国家繁荣。新加坡基因组研究院作为基因组探索中心，成立于 2001 年，它将朝着个性化药物的目标，整合技术、遗传学和生物学。新加坡基因组研究院的核心研究领域包括系统生物学、干细胞和发育生物学、癌症生物学及药理学、人类遗传学、传染病、

基因组技术以及计算和数学生物学。其基因组学基础设施用于培训新的科技人才，为科研和工业研究搭建桥梁，并探索影响力大的科学问题。

关于新加坡科技研究局(A*STAR)

(www.a-star.edu.sg)

A*STAR 是新加坡的领导机构，为生机勃勃的新加坡培养了世界级的科学研究和人才。A*STAR 积极培育了生物医药科学、物理学和工程学的公共部门研究与开发，尤其关注对新加坡制造业和新兴工业很重要的领域。它监管着 22 个研究所、联盟和中心，并支持与大学、医院研究中心和其他本地及国际伙伴的对外研究。这种知识密集型工作的核心是人力资源。顶尖的本地和国际科技人才在 A*STAR 研究所中发挥着知识创造力。该局还为一流大学的本科生、研究生及博士后培训提供奖学金，这也反映出 A*STAR 将培育新一代科技人才摆在最优先的位置。

罗氏诊断产品（上海）有限公司

罗氏应用科学部

www.roche-applied-science.com

Illumina 正式开展个人基因组测序服务

Illumina 公司 6 月 10 日宣布将向顾客提供高质量的个人基因组测序服务，价格为 48000 美元。该服务将利用 Illumina 的 Genome Analyzer 测序仪，在最近认可的 CLIA 实验室中开展。

个人基因组测序服务将对个人的 DNA 进行测序，深度达 30 倍，并提供基因组的 SNP 变异和其它结构特征的信息。

除了测序服务，Illumina 正在建立章程、基础设施和社区，以实现大规模个人基因组测序。这其中包括合作网络的构建，以提供更多服务。数据分析伙伴、医生和遗传顾问都将在 Illumina 的个人基因组测序服务中扮演着重要角色。医生在这项服务中尤为关键，因为他们将与顾客讨论该过程、订购测序服务、收集 DNA 样品，并将最终的测序结果交给顾客。

Illumina 正在与多个伙伴合作，包括 23andMe、deCODE Genetics、Knome 和 Navigenics，以加速二次数据分析，如疾病风险的计算和目的性状的信息。遗传顾问将会为顾客提供结果咨询。

Illumina 已经对他们的 CEO Jay Flatley 进行了测序，目前正在处理另外三个基因组。Hermann Hauser 是第二个参与此项服务的个人。“我很高兴能成为第二人，所得的基因组信息将有助于对潜在

的健康风险进行详细的评估。我希望并相信此项服务会变得更加流行，因为基因组和潜在疾病之间的关系正变得更加精确。”Hauser 谈到。Flatley 和 Hauser 都希望将他们的完整基因组序列放在公共数据库中，以便加快对基因组的整体了解。

Illumina 的总裁 Jay Flatley 表示：“我们相信从长远看，个人基因组测序将成为一种常规的工作，它产生的信息将有助于医生做出更好的保健决定。通过提供这项服务，Illumina 将协助促进基础设施的开发以及医生培训，让基因组信息在医学上更有意义。”

美国已有多家公司开展了个人基因组测序的相关业务。去年 10 月，美国 Complete Genomics 公司推出了费用为 5000 美元/人的个人基因组测序业务。而在 23andme，你只需花上 399 美元，即可进行 DNA 唾液测试，便可对你进行 90 多项身体特征和状况以及自己的祖先进行评估，如秃顶和失明。23andme 的这项业务被美国《时代》杂志评为 2008 年度最佳发明。

（生物通 余亮）

罗氏应用科学部在上海成立应用支持中心

罗氏应用科学部宣布，新的[应用支持中心\(ASC\)](#)在中国上海正式投入运营。中心配备的专家能熟练地将广泛多样的科学技术应用在不同的生命科学研究专题，并为整个亚太地区研究人员的日常工作提供技术建议。

中心将会免费为客户提供罗氏应用科学部所有产品的热线支持。为了满足研究人员当前的需求，罗氏正不断加强技术支持，并使其在文化和地理上都更能符合亚太地区的客户的需求。这次行动旨在加快罗氏客户项目的进行。在不久的将来，ASC 将继续扩容，增设实验室设备，为客户的试用提供实验室支持，并且为罗氏设备的使用提供培训和演示。

继去年在泰国曼谷建立了罗氏诊断亚太培训中心，这次罗氏应用科学部在上海的投资，又一次印证了罗氏诊断致力于对亚太地区的长期发展的承诺。。

罗氏诊断亚太地区董事总经理 Roland Diggelmann 表示“罗氏一向专注于创新。我们的目标是通过产品的创新以及出色的服务为科研人员提供支持，从而使生命科学的研究与发现能有更快的发展。”

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。从耗时少的，全自动的样本制备系统 (MagNA Lyser 和 MagNA Pure)，到快速精准的卡盘式 LightCycler® 2.0 和 模块式高通量 LightCycler®.480 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 Systemhe 和 NimbleGen. 高密度 DNA 芯片，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；2008 年罗氏推出的创新 xCELLigence System 实时、无标记、高通量细胞分析系统，集合了分子生物学、细胞生物学与微电子方法学，突破了传统终点法细胞分析技术的瓶颈，为细胞学基础研究和药物研发提供了新型的、高通量筛选和检测平台。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。

赛默飞世尔三聚氰胺检测方法夺 2009 荣格技术创新大奖

2009 年 7 月 2 日，中国上海——“2009 荣格食品饮料业技术创新奖”颁奖典礼日前在上海淳大万丽酒店隆重举行。赛默飞世尔科技公司凭借三聚氰胺检测技术——LC-MC/MS 检测方法，一举夺得“食品安全类”技术创新大奖，也成为唯一一家上榜的科学仪器制造商。该奖项是全球著名工业资讯媒体荣格集团自 2005 年创立技术创新奖以来首次就食品安全技术设立奖项，体现了荣格技术创新奖对食品工业社会责任承诺的重视，也是对 2008 至 2009 年度为中国食品安全乃至社会生活带来深刻影响的创新技术的肯定。

LC-MC/MS 检测方案，应用配有 [Surveyor™](#) [LC-MS](#) 型液相泵和自动进样器的 [Thermo Scientific TSQ Quantum](#) 质谱仪。 [Thermo Scientific TSQ Quantum](#) 三重四极杆质谱系统是 唯一可以使用高度选择反应监测(H-SRM)模式的仪器，这种模式使动物组织等复杂样品的快速和有效分析更容易、更快捷。Thermo Scientific 的 LC-MS/MS 检测方法，得出的精密度值和准确度值，完全满足食品药品监督管理局关于分析方法建立和确证的指导原则与要求。另外，此方法与涡流技术相结合，提供了一套从样品制备到数据分析完全的解决方案，节省了科研工作者和政府检测机构工作人员的宝贵时间。

该方法是美国国家食品安全与技术中心检测三聚氰胺的主要方法，目前也被中国质量监督检验检疫总局（AQSIQ）及下属实验室作为参考方法。2008 年下半年，国内关于婴幼儿奶粉中存在三聚氰胺的丑闻迅速引起全社会的高度关注，赛默飞世尔的技术团队也在 48 小时内迅速做出反应，以 LC-MC/MS 检测方案帮助相关机构开发出检测牛奶和婴儿配方乳制品中三聚氰胺的检测方法。

自 2009 年 1 月起，由著名 B2B 工业资讯媒体出版商荣格贸易出版有限公司主办的“2009 荣格食品饮料业技术创新奖”评选活动吸引了国内外

企业参加，经过来自中国食品工业协会、中国食品添加剂生产应用工业协会、中国食品发酵工业研究院、中国食品和包装机械工业协会、中国肉类食品综合研究中心、上海市冷冻食品协会、上海市糖制食品协会等专业机构的专家评审团的严格评议，最终评选出了 20 项创新技术和 27 项具有代表性的创新产品。



图：赛默飞世尔科技公司中国区市场总监毛君玲女士（左）代表公司领奖

欢迎访问食品安全专题：

<http://www.thermo.com.cn/foodsafety>

欲了解更多食品安全讲座信息，请访问：

<http://www.thermo.com.cn/webinar-foodsafety09>

关于赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific, 原热电公司)

赛默飞世尔科技 (Thermo Fisher Scientific) (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更健康、更清洁、更安全。公司年销售额超过 105 亿美元, 拥有员工约 3 万 4 千人, 在全球范围内服务超过 35 万家客户。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所遇到的

从常规测试到复杂研发的各种挑战。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、安全和教育领域的客户提供一系列实验室装备、化学药品及其他用品和服务。赛默飞世尔科技将努力为客户提供最为便捷的采购方案, 为科学研究的飞速发展不断改进工艺技术, 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。更多信息, 请浏览公司网站:

www.thermofisher.com (英文) 或

www.thermo.com.cn (中文)。