

EBIOTECH

生物通技术周刊

第66期
2009年8月27日
全文下载

〔技术前沿〕

廉价的第三代纳米孔测序
第三代单分子测序的开山之作
跨膜之旅 漫谈转染系统
普通手机也能变身为荧光显微镜

〔新品速递〕

安捷伦推出新款DNA捕获芯片
多功能又小巧的高速冷冻离心机登陆中国
通用电气推出富集低丰度蛋白的磁珠
Millipore新一代微毛细管细胞分析仪绚丽登场

〔应用指南〕

8月冷泉港实验手册聚焦干细胞
利用多重激光微孔板细胞分析仪进行细胞增殖及细胞周期分析

〔行业动态〕

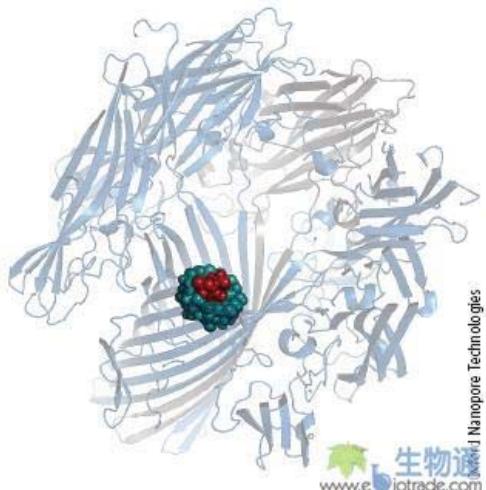
安捷伦重金收购瓦里安 众说纷纭
罗氏与谷歌合作将病毒检测技术带到非洲
分享你的转染结果 赢取iPOD
赛默飞世尔科技亮相2009国际生化大会

廉价的第三代纳米孔测序

最早的 Sanger 测序在人类基因组计划中立下赫赫战功，但也给基因组测序贴上了数亿美元的价格标签，让人生畏。这两年发展迅猛的第二代测序仪——Illumina 的 Genome Analyzer、Roche 454 的 GS 系列以及 ABI 的 SOLiD 系统——让人类基因组重测序的费用蹭地降低到 10 万美元以下。现在，能对单个 DNA 分子进行测序的第三代测序仪也加入到这场比赛中，让竞争更加激烈。

目前，第三代测序主要有三种技术平台。两种通过掺入并检测荧光标记的核苷酸，来实现单分子测序。Helicos 的遗传分析系统已上市，而 Pacific Biosciences 准备在明年推出单分子实时 (SMRT) 技术。第三种 Oxford Nanopore 的纳米孔 (nanopore) 测序还尚未有推出的时间表，但有可能是这三种当中最便宜的。纳米孔测序的优势在于它不需要对 DNA 进行标记，也就省去了昂贵的荧光试剂和 CCD 照相机。

最近，Oxford Nanopore Technologies 的 Hagan Bayley 及他的研究小组正致力于改善纳米孔。根据他们之前的工作，他们以 a-溶血素来设计纳米孔，并将环式糊精共价结合在孔的内侧（下图）。当核酸外切酶消化单链 DNA 后，单个碱基落入孔中，它们瞬间与环式糊精相互作用，并阻碍了穿过孔中的电流。每个碱基 ATGC 以及甲基胞嘧啶都有自己特有的电流振幅，因此很容易转化成 DNA 序列。每个碱基也有特有的平均停留时间，它的解离速率常数是电压依赖的，+180 mV 的电位能确保碱基从孔的另一侧离开。



a-溶血素纳米孔（剖面图）以及共价结合的环式糊精（浅蓝色）瞬间结合落入孔中的碱基（红色）。

以往对甲基胞嘧啶进行测序，都要先进行重亚硫酸盐转化，而纳米孔技术能直接读出这第五种碱基。这对表观基因组测序的研究人员来说可谓是个好消息。

纳米孔测序预计能满足大部分测序用户的需求：99.8% 的准确性相当高，且错误很容易通过计算来纠正。均聚物延伸也没有问题，因为纳米孔记录每一个碱基，而不管其前后的碱基。读长也会很长。Bayley 认为：“它有可能读取数千个碱基，序列质量也不会下降。即使中途有一些小差错，它也可以重新开始。”

但是，Oxford Nanopore 的测序仪仍面临两个重要的技术问题。一是如何将核酸外切酶更好地附着在孔上，让它每次只掉入一个碱基，这是一个大挑战。另一个是并行化。这个问题可能简单一些。他们可以开发出一个芯片，上面有数万个孔，来确保整个测序过程更快速。

在纳米孔测序技术的推动下，实现千元基因组的目标指日可待了。

参考文献：

Clarke, J. et al. Continuous base identification for single-molecule nanopore DNA sequencing. *Nat. Nanotechnol.* advance online publication 22 February, 2009.

第三代单分子测序的开山之作

斯坦福大学的科学家最近利用 Helicos Biosciences 的 Heliscope 单分子测序仪, 对一名白人男子的基因组进行了测序, 文章发表在最新一期的《Nature Biotechnology》在线版上。

斯坦福大学的生物工程师 Stephen Quake, 同时也是 Helicos 的创始人之一, 对他本人的基因组进行了测序。在两名研究人员的协助下, 他利用一台 Heliscope 测序仪和 4 次数据收集运行, 完成了此次测序。

研究人员报告称, 他们产生了数十亿个 Heliscope 序列读取, 覆盖了 90% 的人参考基因组, 覆盖度达 28 倍。序列读长为 24 到 70 个碱基, 平均读长为 32 个碱基。到目前为止, 他们已经鉴定出 280 万个 SNP 和 752 个拷贝数变异。

这次测序花了 4 个星期的时间, 试剂花费为 48000 美元。Quake 认为, 这些工作在普通的实验室中就能完成, 只需要一台仪器, 费用也适中。另一名研究人员 Neff 表示, Heliscope 的主要优势在于高产量以及文库制备简单, 不需要 DNA 扩增或连接。“如果有三台 Heliscope, 我一个星期就能完成。”

Neff 解释道, 因为有小部分核苷酸未标记上, 在测序过程中出现了一些“暗色”的核苷酸, 好像缺失一样。研究小组利用 Helicos 软件来协助碱基检出, 并通过增加基因组覆盖度来校正缺失的错误。与参考基因组比对之后, 他们发现读取片段覆盖了 25 亿个碱基, 大约 90%。

为了帮助检出 SNP, 另一位作者 Pushkarev 开发出一种 UMKA 算法。这个算法预测出基因组中的 2805471 个 SNP。其中大约 76% 也在 dbSNP 中找到。他们还将鉴定出的 SNP 与 Illumina

Human610-Quad SNP BeadArray 检测到的结果进行比较, 发现两种方法的一致性为 99.8%。此外, 研究人员还用 Sanger 测序验证了其中 100 个 SNP。他们还发现了基因组中的 752 个 CNV, 其中超过半数出现在基因组变异数据库中。

作者们也提到这种测序方法仍有缺陷, 包括基因组覆盖不完整, 缺乏 SNP 和结构变异的完整数据。

Helicos 的副总裁 Patrice Milos 表示: “显然, 这是 Steve Quake 的里程碑式文章, 同时这也是 Helicos 的里程碑式文章。我们着实兴奋和激动。”他认为 Helicos 一直致力于开发容易运行的仪器, 且前期的样品制备简单, 这样小型实验室也能进行基因组测序。

下一步, 研究小组还将与斯坦福干细胞生物学和再生医学研究院合作, 利用 Heliscope 对癌症基因组进行测序。

[共享荷兰BioPlastics PCR精品耗材, 免费索取最新产品目录](#)

原文检索:

Single-molecule sequencing of an individual human genome

Dmitry Pushkarev, Norma F Neff & Stephen R Quake

Nature Biotechnology Published online: 10 August 2009 | doi:10.1038/nbt.1561

摘要：

Recent advances in high-throughput DNA sequencing technologies have enabled order-of-magnitude improvements in both cost and throughput. Here we report the use of single-molecule methods to sequence an individual human genome. We aligned billions of 24- to 70-bp reads (32 bp average) to 90% of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) reference genome, with 28 average coverage. Our results were obtained on one sequencing instrument by a single operator with four data collection runs. Single-molecule sequencing enabled analysis of

human genomic information without the need for cloning, amplification or ligation. We determined 2.8 million single nucleotide polymorphisms (SNPs) with a false-positive rate of less than 1% as validated by Sanger sequencing and 99.8% concordance with SNP genotyping arrays. We identified 752 regions of copy number variation by analyzing coverage depth alone and validated 27 of these using digital PCR. This milestone should allow widespread application of genome sequencing to many aspects of genetics and human health, including personal genomics.

跨膜之旅 漫谈转染系统

最近这些年，转染一直是个热门的话题。从早期的一支独秀到现在的百花齐放，研究人员的选择是越来越多了。可能也是大家对难以转染的原代细胞和干细胞的兴趣日益增加，催生了转染试剂的蓬勃发展。另外，现在的研究人员早已不满足于单个的转染，他们更倾向于用高通量转染在整个基因组范围内筛选药物的靶点，高通量的转染仪器应运而生。那么，我们就带大家来看看非病毒核酸导入技术近年来的发展。

大家都知道，除了病毒，核酸导入的方法可分为物理方法和化学方法。物理方法就比如电穿孔，它瞬间改变细胞膜，摄入 DNA 或 RNA；化学方法是让载体包裹核酸，从而形成复合物，融入细胞。

化学方法中的载体有 n 多种，从聚合物、脂质体到这两年新兴的纳米颗粒。聚合物载体，如聚乙二亚胺 (PEI)、聚胺和环状糊精，它们结合并压缩 DNA 或 RNA，形成稳定的颗粒，通过内吞作用被细胞吸收。QIAGEN 的 SuperFect 和 PolyFect 转染试剂，以及 Fermentas 的 ExGen 500 试剂正是此种类型。

脂质体或许大家更熟悉，它的历史已超过 20 年，是最受欢迎的体外导入载体。脂质体结合或包围核酸，进而被细胞吸收。Invitrogen 公司的脂质体 Lipofectin、Lipofectamine、Lipofectamine 2000 已畅销十余年。脂质体还是携带小分子 RNA 进入细胞的有力武器。Ambion (现属于生命科技公司) 就开发出 siRNA 转染试剂 -siPORT NeoFX，Invitrogen 也修改了阳离子脂质体的配方，专门为小分子 RNA 推出 RNAiMAX。

当然，转染不仅仅限于细胞系，许多研究人员将他们的目光投向体内转染。一些生物公司如 Polyplus-transfection、Altogen Biosystems 等利用脂质体或可生物降解的聚合物作为载体，将 DNA 片段或 siRNA 导入体内。然而，它们都不是理想的载体。脂质体的导入效果虽比聚合物要持久，但它可能引起更多的免疫反应，这也不是研究

人员所期望的。也正是这些不足，导致了近几年纳米颗粒的出现。2007 年，Sigma-Aldrich 推出了 N-TER 纳米颗粒 siRNA 转染试剂，让 siRNA 结合在纳米颗粒的表面，通过 N-TER 肽段导入体内。

在RNAi研究领域，越来越多的研究人员开始对高通量的筛选感兴趣。瑞典Celllectricon公司也注意到这一点，他们认识到转染是RNAi筛选中的主要瓶颈之一，急需一种高通量的转染方法。于是他们花了两年的时间，开发出第一台全自动的转染系统-Cellaxess HT电穿孔仪。这台仪器能够自动移液，自动在细胞中加入siRNA，自动将移液吸头转换成电穿孔元件，并进行电穿孔，最后加入细胞培养基进行复苏。Cellaxess HT每天能转染 50000 个孔。生物通之前介绍过的Nucleofector核转染系统

（<http://www.ebiotrade.com/newsf/2008-5/2008526100943.htm>）也是类似的电穿孔仪器，它能够对 96 孔板进行转染。

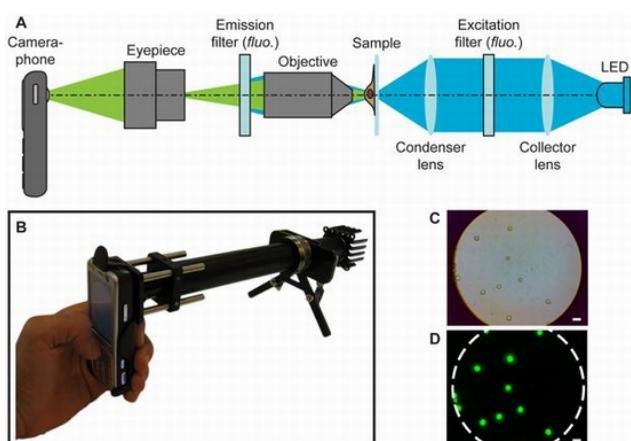
说到底，转染的目标其实很简单，就是用最少量的 DNA 或 RNA 去转染最多的细胞。当然，还要尽量减少或避免对细胞的毒性、脱靶效应和免疫反应。别看这个目标简单，实现起来还真不容易。无论是试剂还是仪器，都有需要改进的地方，同时，新技术也在不断萌芽。也许在不久的将来，转染将不再是实验中的瓶颈，轻轻松松就能实现。

（生物通 余亮）

普通手机也能变身为荧光显微镜

加利福尼亚大学伯克利分校的研究人员最近开发出一种小巧的荧光显微镜，可以附在普通的照相手机上。4月份，研究小组首次展示了最初的亮视场显微镜模型，并将它命名为CellScope。最新的版本增加了荧光显微镜的功能。

荧光显微镜比标准的光学显微镜需要更多装置，如滤光片和特殊的光源，因此也更贵。在 Dan Fletcher 教授的研究论文中，他们展示了如何利用现有的照相机和相对廉价的组件，在手机上安装一个完整的荧光系统。下图即为手机显微镜的结构示意图、雏形和拍到的图像。



CellScope 利用小巧的显微镜镜头在照相手机上拍照。荧光显微镜就用 LED 作为光源。滤光片为 460 nm，能激发标记结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 的绿色荧光染料。研究人员成功捕获了这种细菌的荧光图像，以及镰刀型血细胞和疟原虫的亮视场图像。疟原虫大家应该很熟悉吧，它是引起疟疾的元凶。这些图像是用 320 万像素的照相手机拍的，空间分辨率为 1.2 微米。

这种手机型荧光显微镜适用于医疗条件差的地区。记录下的图像可以立即分析，或无线传输到诊疗中心，进行远程诊断。该研究小组目前还在开

发更坚固的 CellScope，希望用在更广泛的现场测试。

这个新发明刊登在近期的 PLoS ONE 上。请点击文章标题查看原文。（生物通 余亮）

原文检索：

[Mobile Phone Based Clinical Microscopy for Global Health Applications](#)

摘要：Light microscopy provides a simple, cost-effective, and vital method for the diagnosis and screening of hematologic and infectious diseases. In many regions of the world, however, the required equipment is either unavailable or insufficiently portable, and operators may not possess adequate training to make full use of the images obtained. Counterintuitively, these same regions are often well served by mobile phone networks, suggesting the possibility of leveraging portable, camera-enabled mobile phones for diagnostic imaging and telemedicine. Toward this end we have built a mobile phone-mounted light microscope and demonstrated its potential for clinical use by imaging *P. falciparum*-infected and sickle red blood cells in brightfield and *M. tuberculosis*-infected sputum samples in fluorescence with LED excitation. In all cases resolution exceeded that necessary to detect

blood cell and microorganism morphology, and with the tuberculosis samples we took further advantage of the digitized images to demonstrate automated bacillus counting via image analysis software. We expect such a telemedicine system for global healthcare via mobile phone – offering inexpensive brightfield and fluorescence microscopy integrated with

automated image analysis – to provide an important tool for disease diagnosis and screening, particularly in the developing world and rural areas where laboratory facilities are scarce but mobile phone infrastructure is extensive.

[点击索取美天旎最新技术期刊，了解磁珠分离方面的最新进展！](#)

安捷伦推出新款 DNA 捕获芯片

生物通报道,继溶液型的 SureSelect 目标富集系统之后,安捷伦公司本月再度推出 SureSelect DNA 捕获芯片,能轻松打破小型 DNA 研究中的瓶颈,让科学家只对感兴趣的基因组区域进行测序。

与上一代产品相似, SureSelect DNA 捕获芯片也能从完整基因组中提取用户定义的基因组区域,从而大幅度降低测序费用。两者的区别是:溶液型的 SureSelect 目标富集系统适用于样品数量上千的大规模高通量测序研究,包括自动化的高通量流程,而捕获芯片则是它的补充,适合小型化的研究。

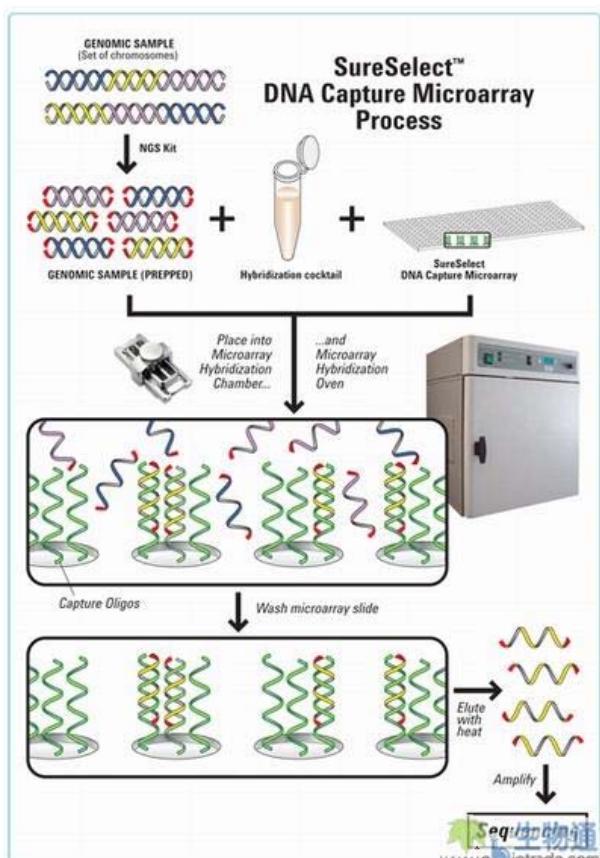
区域(黄色)就与 60 聚体的探针结合,之后进行洗涤。杂交和洗涤都在严格的缓冲液中进行,再通过热处理将结合部分洗脱。洗脱后的 DNA 能进一步扩增,再上样到 Illumina 的 Genome Analyzer 测序仪上进行测序。SureSelect DNA 捕获芯片是为 Illumina 的测序仪而设计的,不过将操作步骤稍加改动,也能用于其他测序仪。

在一项合作研究中,安捷伦利用 244K SureSelect DNA 捕获芯片来捕获乳腺癌相关的外显子区域。利用 60 聚体的探针大致捕获到 0.025% 的人类基因组,包括 1287 个分离的基因组区域,然后释放并测序。最终,在目标区域获得了 2700 倍的富集。结果验证了 SureSelect DNA 捕获芯片的有效性。测序读数覆盖了目标区域的 99.8% 以上,而 98% 的目标碱基都至少有一次读取。这些结果证实 DNA 捕获芯片是定向测序的快速有效方案,尤其适合小型研究。

安捷伦的产品经理 Fred Ernani 博士表示:“如果一个实验室正在进行新一代测序,那么安捷伦提供了一系列产品,让实验进行得更快、更好、更经济。SureSelect DNA 捕获芯片很适合那些样品数量不多,又需要经济的目标富集工具的研究人员。”

(生物通 余亮)

[点击索取SureSelect DNA捕获芯片的更多资料!](#)



上图概括了捕获芯片的工作原理。片段化的 DNA 两端加上接头,然后与捕获芯片杂交。目标

多功能又小巧的高速冷冻离心机登陆中国

Eppendorf 将两个完全不同的需求-体积小巧和多功能-整合到一台离心机上，生成了 5430 R 冷冻高速离心机。现在它已经登陆中国。5430R 冷冻离心机外型精致小巧，最大相对离心力高达 30,130Xg，8 款转子使用灵活，操作界面友好人性化，是科研、临床和研发实验室的理想离心选择。



5430R 冷冻离心机继承了 5415R 冷冻离心机的小巧体积设计，拓宽了台式冷冻离心机的应用范围，可以离心几乎所有管或板，从 0.2ml PCR 管到 50ml Falcon 管的各类试管、工作板以及采血管等常用离心耗材。直观便捷的操作和简洁轻松的编程功能，使离心工作变得更加安全，可靠，有效。

[点击索取 5430R 冷冻离心机的更多资料及报价](#)

产品特性：

- 控温范围：-11 °C - +40 °C
- 所有转子在最高转速时，均可维持 4°C
- 离心结束后，可以继续制冷
- 高达 30,130Xg 的相对离心力
- Fast Temp 快速制冷功能，可将转子以及整个胶体温度迅速降到设定温度

- Fast Temp pro 快速制冷编程功能：从设定时间开始快速制冷
- 自动转子识别，限速离心更安全
- 自动锁盖功能和失衡检测，确保安全离心
- 可储存多达 50 个常用程序
- 八款转子选择：
- A-2-MTP：适用于微孔板或 PCR 板的水平转子
- F-35-6-30：适用于 6x15 ml / 50ml Falcon 管的固定角转
- F-45-18-17-Cryo：冻存管转子
- FA-45-24-11-Kit：24x1.5 / 2.0 ml Spin Column 或过滤管转子
- FA-45-24-11-HS，24x1.5 / 2.0 ml 气密性超高速转子
- FA-45-30-11：30x1.5 / 2.0 ml 气密性微量离心管转子
- F-45-30-11，30x1.5 / 2.0 ml 微量离心管转子
- F-45-64-5-PCR，64x0.2 ml PCR 排管转子

通用电气推出富集低丰度蛋白的磁珠

通用电气医疗集团最近推出 Mag Sepharose™磁珠，能有效地捕获并选择性富集蛋白和肽段。

Protein A、Protein G 和 NHS Mag Sepharose 磁珠上固定的抗体或其它蛋白能用在免疫沉淀中，捕获目标蛋白。而 TiO2 Mag Sepharose 能从消化的蛋白样品中富集磷酸化的肽段。其简单、灵活的操作步骤和洗脱条件已经为电泳和质谱分析而优化过。



Mag Sepharose 磁珠有以下几种形式：

- TiO2 Mag Sepharose，从复杂样品中富集磷酸化肽段
- Protein A 和 Protein G Mag Sepharose 亲和层析填料，通过免疫沉淀捕获目标蛋白

- NHS Mag Sepharose，可共价偶联任何带自由氨基的蛋白，用于多种类型的 pull-down 实验

磁珠很适合小型实验。高密度的磁珠能够被磁性装置快速捕获，而肉眼可见的磁珠确保能收集到所有目标蛋白。这样，样品中低丰度目标蛋白的浓度可从毫升降低到微升。而在富集和免疫沉淀中只需要少量的捕获抗体。

目前，Mag Sepharose 磁珠有两种包装规格：1 x 500 μ l 适用于 10 个样品，4 x 500 μ l 适用于 40 个样品。它可以与 MagRack 6 磁力架共同使用，每次平行处理 6 个样品。当离心管放置在磁力架中时，磁珠被吸引至一侧，这样能快速去除上清，同时保留磁珠。（生物通 余亮）

[点击索取 Mag Sepharose 磁珠的详细资料！](#)

Millipore 新一代微毛细管细胞分析仪绚丽登场



密理博公司日前宣布新一代 Guava easyCyte™ 8HT 微毛细管细胞分析仪绚丽登场！这款紧凑集约型，并拥有六种颜色检测系统的细胞分析仪能进行 96 孔板自动化检测，能让科学家轻轻松松在个人实验室完成“流式”全过程。该系统是今年密理博公司收购 Guava Technologies 之后，第一台由密理博公司设计制造的“流式”细胞仪。

Guava easyCyte™ 8HT 能帮助科学家同时检测 1 个细胞的 8 个生物指标（包括 6 种荧光颜色）。除此之外，六色检测系统能让科学家自由地选择荧光素，在最合适的荧光通道中进行数据获取，以此降低了检测信号重叠的机会，从而提高了数据质量。

休斯敦大学运动生理、营养和免疫副教授 Brian K. McFarlin 指出“细胞分析仪是我们实验室非常重要的研究仪器。Guava 使我的实验室研究比从前更有效，更方便。传统流式细胞仪需要全职人员操作和维护，成本较高。但 Guava 细胞分析仪只需要进行样品上样。在过去两年中，我们已经分析过 30,000 多个样品且没有出现问题。”

McFarlin 博士强调：“Guava 系统还能分析比传统流式小 20 倍的血液样品，不仅减少了样品体积，而且减少了抗体和试剂消耗。因此，在过去的

两年中，我们实验室为此节省了约 60,000 美金的抗体试剂费用。”

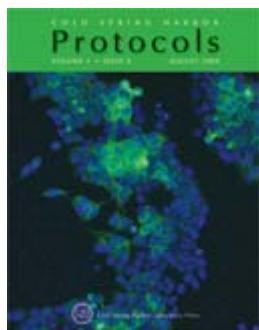
和其他的 Guava 微毛细管细胞分析/计数仪一样，EasyCyte 8HT 系统应用了专利的微毛细管技术，减少了上样的细胞数量和产生的废液量，从传统的几升/天到小于 50 毫升/天。由于减少了复杂的液流系统，使得仪器所占空间缩小，维护成本下降。

EasyCyte 8HT 的 InCyte 新软件显著改善了数据分析。InCyte 软件让科学家能同时查看、对比和分析多组数据，也就是说对比传统软件分析单个样本，现在整块 96 孔板的数据能在较短时间内分析完成。

除新的仪器外，Millipore 将向广大科研用户提供整体解决方案，包括生命科学的试剂盒、临床应用以及技术支持服务。

8月冷泉港实验手册聚焦干细胞

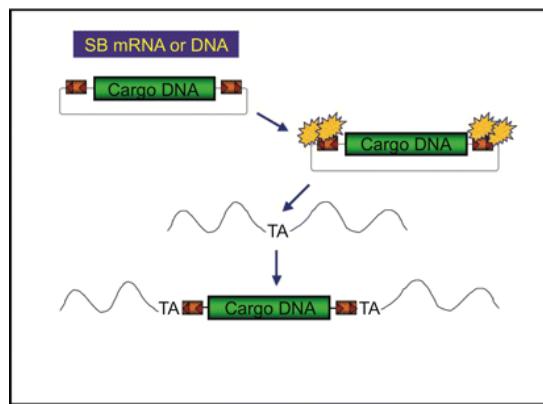
生物通报道，8月初，冷泉港照例发布了新一期的实验手册。这次的免费大餐都是关于干细胞的，一是利用睡美人转座系统在小鼠胚胎干细胞中实现稳定的基因表达；二是关于定向的造血干细胞转导。请点击文章标题查看。



Protocol 1

Use of the Sleeping Beauty Transposon System for Stable Gene Expression in Mouse Embryonic Stem Cells

简介：睡美人（SB）转座系统由两个成分组成，一个是转座酶，另一个是包含反向重复/正向重复（IR/DR）序列的转座子质粒，能精确整合到TA二核苷酸中。将目的表达框放入IR与DR间，SB转座酶会介导稳定的整合，从而长期表达目的基因。最近，研究表明睡美人转座系统能介导人胚胎干细胞中的基因转移和稳定基因表达。于是，密歇根大学的研究人员就奉献出在小鼠胚胎干细胞中转染并建立稳定细胞系的方法。



上图即为睡美人转座系统的示意图。SB 包含了转座酶来源（mRNA 或 DNA）和转座子质粒，质粒上带有 IR/DR 序列，中间夹着目的片段。一旦转座酶表达，它就识别并结合 IR/DR，催化 TA 靶位点的精确整合。一旦整合，TA 二核苷酸就复制，而转基因以单个拷贝整合在基因组中。

Protocol 2

Hematopoietic Stem Cell Targeting with Surface-Engineered Lentiviral Vectors

简介：此份实验手册改编自冷泉港出版社《Gene Transfer: Delivery and Expression of DNA and RNA》。用展示 HSC-激活多肽，干细胞因子（SCF）和促血小板生成素（TPO）的载体特异性转导造血干细胞（HSC），并在非肥胖型糖尿病/重症综合性免疫缺陷的小鼠模型中评估定向的 HSC 转导。

利用多重激光微孔板细胞分析仪 进行细胞增殖及细胞周期分析

作者: Andrew Goulter, Paul Wylie 和 Wanyne Bowen

(TTP LabTech Ltd, Melbourn Science Park, Melbourn, Hertfordshire, UK.)

概述:

越来越多的研究人员希望通过高内涵分析从单个样品中获得多种信息, 以减少经济和人力消耗的同时增加检测通量。目前这种多重检测的程度受限于可用的试剂----多数荧光探针的最佳激发波长大都在 488nm 附近, 而这些荧光探针在光谱曲线上的重叠限制了它们在多通道分析上的应用。另一个限制是许多荧光检测系统的激发和检测范围仅限于一个狭窄的波长范围, 导致它们不兼容某些荧光指示剂。如今, 试剂和仪器的同步发展扩充了可用新产品的范围, 因而使得以不同的光谱检测多种荧光探针成为可能, 提升了多通道检测的能力。

激光扫描荧光微孔板细胞分析仪, Acumen eX3 (TTP LabTech Ltd, UK), 可在一台仪器中提供 405nm, 488nm 和 633nm 三种波长的激发光, 再加上每种激发光可获取四种荧光检测数据, 大大扩展了可组合用于多色多重分析中的荧光试剂的范围, 其激发波长范围与白光光源仪器相近。Acumen eX3 将 CCD 成像仪强大的目标识别能力和快速的数据读取速度相结合, 能够对 96 孔, 384 孔和 1536 孔板进行全孔高通量化高内涵分析, 可达到 24 小时内获取 30 万个孔的数据这样的高通量。

荧光微孔板细胞分析仪在癌症研究中应用广泛, 包括用碘化丙啶(PI)进行 DNA 染色 (激发波长 488nm) 研究细胞增殖和细胞周期分析。在此我们通过在 Acumen eX3 上使用两种 DNA 染料 Hoechst 34580(激发波长 405nm), TO-PRO-3(激发波长 633nm)进行分析, 并探讨在免疫检测分析中的多通道技术的应用潜力。

结论:

- 不同激发波长 (405nm, 488nm 和 633nm) 的细胞核染色所得的细胞数目显示良好的相关性

Hoechst 34580, TO-PRO-3 和碘化丙啶

(Propidium Iodide) 可用于同一单孔中以进行多重分析

- 利用 Acumen eX3 在 405nm, 488nm 和 633nm 激发光可活细胞和固定后细胞都能进行细胞周期分析

- 微孔板细胞分析仪非常适用于高通量化高内涵筛选, 分析通量可达到每 24 小时超过 30 万孔, 且无需担心数据储存问题。

[点击索取 Acumen 微孔板细胞仪的更多资料!](#)

1. Acumen eX3 微孔板细胞分析仪



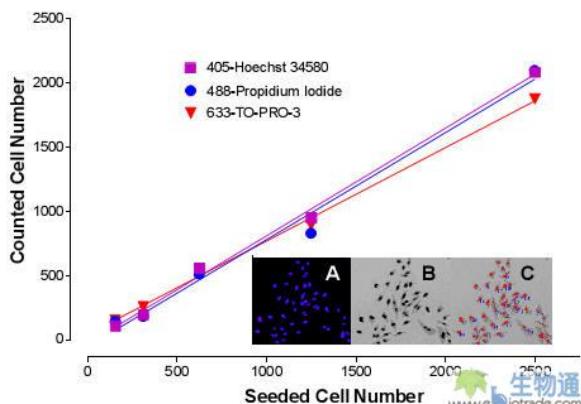
Acumen eX3 激光扫描荧光微孔板细胞分析仪是结构紧凑的高通量化高内涵台式仪器，可提供三种波长的激发光。这种设计，尤其当仪器是全集成的时候，有利于在宽范围内以高通量进行高内涵分析。专利的信号阈值方法能提供实时 (“on-the-fly”) 细胞分析，大大缩小了数据文件的大小——在高通量(HTS)筛选模式下数据文件仅为 50Kb 左右。

2. 常用激发荧光试剂表

405 nm	488 nm	633 nm
Hoechst	Propidium Iodide	TO-PRO-3
DyeCycle™ Violet	DyeCycle™ Orange	DRAQ5
Alexa 405	Calcein-AM	VITA Blue
Quantum Dots	Alexa 488	Alexa 633
FuraRedHI	FITC	Allophycocyanin
Pacific Blue	Phycoerythrin	Cy5
AmCyan	eGFP	

Acumen eX3 可进行多个波长激光激发，每次扫描获得多达 12 通道的荧光数据(3 个激光x4 个 PMT 检测器)，使之可适用于范围广泛的荧光染料，探针以及蛋白，提升多重检测分析的能力。目前多家试剂和抗体厂商已经与 Acumen 合作，例如 Cell SignalingTM 在 Acumen 上已经测试了 700 多种荧光标记抗体，以确保这些抗体试剂可以在 Acumen 中使用。由于不需要进行细胞核染色来定位细胞。所有探针均可用于报告生物学应答。因为 Acumen eX3 可提供的染料范围相当于白光光源仪器，所以基于显微 CCD 成像系统的检测方法可简便地转移到 Acumen eX3 以进行初筛而且速度更快。

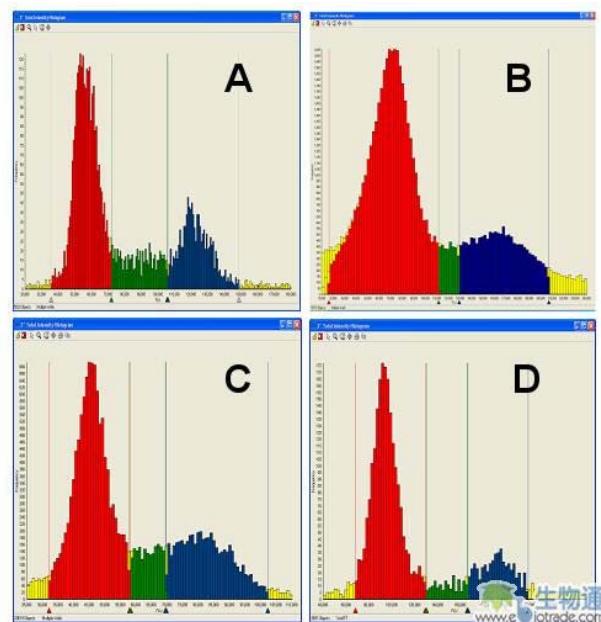
3. 利用多通道激光激发进行多重细胞定量



以不同细胞数目接种 (每孔 156-2500) 的 HeLa 细胞用酒精进行原位固定，并用 Hoechst 34580 (10uM, 405nm) , 碘化丙啶 PI (1.5uM, 488nm) , TO-PRO-3 (0.5uM, 633nm) 这三种染料染色。用 Acumen eX3 微孔板细胞分析仪进行分析。在这个实验中，我们研究在多重分析中以多种染料(405nm, 488nm 和 633nm 三个激发波长)确定不同细胞数目的能力。这三种 DNA 染料加入相同的孔，结果表明这三种细胞核染料之间在确定细胞数目上的结果具有密切相关性，其次也证实在同一孔中多重检测全部三种染料的能力。

插图：图 A 为一个孔中 Hoechst 染色细胞的图像，图 B 为图 A 同一孔的 tiff 格式输出图片，图 C 为带有细胞计数的 tiff 图片。(Image-Pro Plus; Media Cybernetics)

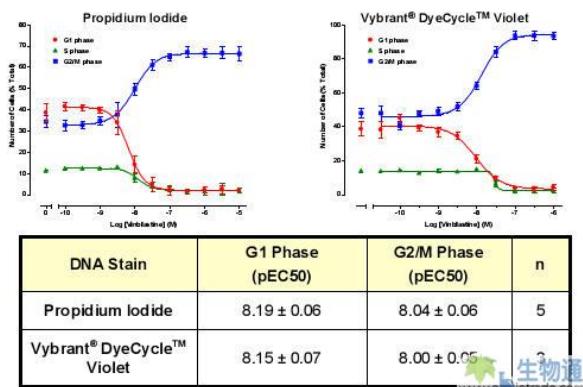
4. 细胞周期分析：405nm, 488nm 和 633nm 激发波长的 DNA 染色比较



HeLa 细胞 (2000 个/每孔) 以： A. 碘化丙啶 PI (10uM) ; B. Hoechst 34580 (10uM) ; C. Vybrant® DyeCycle™ Orange (5uM) ; D. TO-PRO-3 (0.5uM) 进行原位标记。在 Acumen

eX3 微孔板细胞分析仪以 405nm, 488nm 和 633nm 激发波长进行分析。

5.活细胞和固定细胞的细胞周期分析



活细胞用 Vybrant® DyeCycle™ Violet 染色，在 Acumen eX3 微孔板细胞分析仪上以 405nm 激发波长进行分析。固定细胞则用碘化丙啶 PI 染色，在 488nm 激发波长进行扫描分析。采用这两种细胞核染料所获得的 G1 和 G2/M 期的 pEC50 值是基本相符的。

6.高通量和数据存储

	96 孔板	384 孔板	1536 孔板
读板时间 (全孔扫描形式) - 分钟	9.15	10.24	10.26
读板时间 (高通量形式) - 分钟	4.13	4.8	6.67
每 24 小时读板数	350	300	216
每 24 小时读孔数	34,000	115,000	330,000
24 小时操作所得数据总量	17.5 Mb	60 Mb	170 Mb

Acumen eX3 的工作方式是通过 400mm² 的宽视野镜头扫描一个区域，而不是逐孔扫描。因此任一种符合 SBS 标准的微孔板扫描所用的时间基本相似，通常以获取全孔数据方式读完整块板的时间只需要 10 分钟左右，这个时间可以通过减少每孔获取数据区域从而大幅缩减。Acumen eX3 每天可以进行数百个细胞培养板分析，且保存数据所占空间很小。以上数据源于 Acumen eX3. 单激光扫描，扫描精度为 1μm x 8μm，读板时间单位为分钟。

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 已经成为对高内涵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、高内涵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 Redistribution®高内涵路 径分析中侦测细胞内蛋白 质转位的专利技术	脂肪变性
	干细胞分型
	组织扫描和成像
--- Transfluor® GPCR 药物 开发技术	
--- 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：

TTP LabTech Ltd.中国代表处

地址：上海市张江高科技园区蔡伦路 780 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

安捷伦重金收购瓦里安 众说纷纭

最近，仪器界发生了一件大事。安捷伦科技公司以每股 52 美元，总计 15 亿美元的价格重金收购了 Varian (瓦里安) 公司。瓦里安公司总部设在美国加利福尼亚州的 Palo Alto 市，是世界上研究开发科学仪器和真空产品的先驱之一。其主要产品有气相色谱仪、液相色谱仪、色谱质谱联用仪、原子吸收光谱仪等等。瓦里安 2008 财年营收为 10.1 亿美元，其中来自科研仪器的销售收入为 8.387 亿美元，其余的销售收入则来自真空科技产品销售。

在 7 月 24 日之前，瓦里安的股价一直是在 35-40 元徘徊，直到 7 月 27 日周一安捷伦将收购瓦里安的消息一公布，它的股票立刻飙升至 50 美元以上。目前安捷伦公司与瓦里安公司董事会均已批准上述交易。如果这笔交易得到两家公司股东以及监管机构的批准，预计该交易将在今年年底完成。

此次交易将拓展安捷伦在生命科学研究以及应用市场上的份额。此外，安捷伦在原子和分子光谱以及核磁共振、成像和真空技术等领域的产品线也将得到补充。其首席执行官 Bill Sullivan 明确指出，虽然安捷伦得以保持在电子测量市场的领导地位，但“生物分析测量才是我们未来最大的发展机遇”。

安捷伦公司预计，并购交易将使其节省大约 7500 万美元成本，并在 4 到 5 年内实现 20% 的投入资本收益率。

这个爆炸性的新闻也引起了网友的激烈讨论。有网友表示，这两个公司的合并，就好像两块拼图非常吻合的拼在了一起，正好可以优势互补，对于这两个公司来说都是好事。但对于国产仪器来说，就是一场灾难了，竞争对手越发强大了，国产仪器更难有出头之日了。多数网友都认为这是好事，资

源整合更利于发展，但也有部分网友害怕形成垄断局面，导致仪器价格上涨。

这种强强联手绝对会成为仪器市场上最有力的竞争者，至于是好是坏，还是让时间来给予我们答案吧。

相比之下，生物试剂行业的收购就显得有些微不足道。Promega 公司近日购买了其合作伙伴 Turner Biosystems，具体金额未透露。Turner 是一家生产发光检测仪 (luminometer)、荧光计、光度计及其他仪器的公司，之前它与 Promega 就已经建立了完整的生物发光技术的合作。Turner 的总裁 Mike Molkelke 表示：“在过去的几年中，与 Promega 的协作创造出了很多科学家们高度评价的仪器及试剂系统。两个公司都渴望优化这个总的系统。”

生命科技公司 (Life Technologies) 的收购就更为低调。它只是在第二季度的收益表中提到已收购了一家微流体技术公司——Cytomix，至于收购的细节，它透露地很少。它表示收购是因其微流体相关的数字 PCR 技术的知识产权。

生命科技公司还表示它计划将此技术授权给合作伙伴，并推出新产品，用于新一代测序的文库定量到分子诊断分析。（生物通 余亮）

罗氏与谷歌合作将病毒检测技术带到非洲

罗氏将与谷歌旗下慈善机构 Google.org 合作，开发一种系统来预测并预防东非所出现的传染病。东非地区常常出现虫媒病毒（arthropod-borne virus），这种病毒是由吸血的昆虫传播的。

裂谷热（Rift Valley Fever）、登革热和黄热病等大家熟悉的疾病都是虫媒病毒引起的。新项目的第一个研究目标为裂谷热。这种疾病是由虫媒病毒引起，通过蚊子来传播的，会使家畜和人丧命。它将通过人、家畜和野生群体的研究来了解虫媒病毒的循环、传播及维持。此项目还有助于了解致病媒介和宿主的多样性。研究结果将会与现有的风险信息相关联，并开发出疾病爆发的预警系统。

罗氏已经向该项目捐赠了一台 454 测序仪 Genome Sequencer FLX。454 的 CEO Chris McLeod 相信 454 测序系统的使用会改善这种传染病的监测，一旦疾病爆发，也能更快发现。

Google.org 也向该项目的领导机构-国际昆虫生理学和生态学中心 (ICIPE) 捐出了 500 万美元。McLeod 表示：“我们很自豪能与 Google.org 以及肯尼亚的研究机构合作，将这项技术带到新型病毒常常出没的地区。”

国际昆虫生理学和生态学中心的负责人 Christian Borgemeister 强调：“我们很幸运能获得一台 Genome Sequencer FLX，来支持肯尼亚虫

媒病毒的传染监测。大家都知道，东非是新致病媒介滋生的温床。监控这些媒介的传播对于疾病的预警很关键。”

研究员 Rosemary C. Sang 补充道：“这项新技术将会对东非的监控能力起到重要的促进作用，绕过目前已有技术的限制，来探索环境中未被发现的传染媒介，并监控病原菌的进化趋势。”

在病原菌探索方面，罗氏 454 的 GS FLX 已经不止一次立下汗马功劳。去年，研究人员利用它发现了一种新病毒，此病毒造成了南非出血热的爆发。在今年早期，《新英格兰医学杂志》上报道该系统还鉴定出一种从未检测到的病毒，它与澳大利亚三名移植患者的死亡有关。另外，454 测序仪还协助研究人员发现了与热带暗礁大面积减少相关的疱疹样病毒。454 测序的覆盖深度及无需克隆步骤，也让它成为无偏向性的大量样品宏基因组研究的理想选择。（生物通 余亮）

[点击索取Roche/454 最新一代测序仪的详细资料！](#)

分享你的转染结果 赢取 iPOD

说到大名鼎鼎的 FuGENE 6，估计搞转染的无人不知，无人不晓。每每觉得转染试剂毒性太高，大家就想起温柔的 FuGENE 6 来。后来，FuGENE 系列又添了一个新成员 -FuGENE HD，表现更是不俗。虽说罗氏在试剂领域甚为低调，但 FuGENE 系列的市场占有率一直高企。为什么这么受欢迎？当然是满意它们的表现啦。

在转染效果上，FuGENE HD 不单转染效率高，而且适用细胞范围更广。即使是 RAW 264.7, MCF-7, PC-3, MA-10, HepG2, SH-SY5Y, A7r5, STO, SCC-61, SQ20B, T98G 等其他转染试剂难以攻克的哺乳动物细胞株，FuGENE HD 一样能给你满意的结果！此外，在昆虫细胞转染上，FuGENE HD 也同样能胜任。如果你们实验室两种细胞都做，那也无需购买专门的昆虫细胞转染试剂，一下就省了几千块。

不论细胞是脆弱还是皮实，大家都希望转染试剂的毒性越小越好。这也是 FuGENE HD 的主要优势之一。更低的细胞毒性，不单使得转染程序简便，更令大部分转染细胞保持正常的细胞形态，帮助你获得更多可靠的生理学数据。

通过延长时间和调整用量，还可以显著提高转染后的蛋白表达水平。特别是在 HeLa, NIH/3T3, COS-1, COS-7, CHO-K1, CHO-S, Hep G2, HEK-293, MCF-7, 昆虫细胞株 High Five, Sf9 等细胞中表达量显著提高。

血清的存在通常会使转染效率大打折扣，因此需要更换培养基。而 FuGENE HD 在 100% 血清中仍有活性，这样转染过程更加简单，省时又省力，高通量的实验也不在话下。

说了这么多，没用过的肯定是跃跃欲试，那用过的就赶快把你的转染结果与大家分享吧。Share your success, win iPOD.

2009 年 7 月-9 月，罗氏应用科学部举行“FuGENE HD 转染试剂成果共享”，只要提交转染的相关信息，即可赢取精美礼品，每月还有 iPOD 大奖在等着你哦。

活动页面详见：

<http://www.ebiotrade.com/custom/Roche/090717/index.htm>

如果您想了解 FuGENE HD 的更多信息，或索取说明书等资料，请[点击这里](#)。

赛默飞世尔科技亮相 2009 国际生化大会

2009 年 8 月 3 日, 中国上海—第 21 届国际生物化学与分子生物学联盟学术大会暨第 12 届亚洲大洋洲生物化学家与分子生物学家学术大会(以下简称国际生化大会)于昨日起至 8 月 7 日在上海国际会议中心召开。全球科学服务领域的领导者赛默飞世尔科技(纽约证交所代码: TMO)作为赞助商参会, 并针对不同应用领域设展, 旗下科学仪器事业部、生命科学产品事业部以及实验室产品集团均携新产品亮相, 向与会者展示全新的技术解决方案, 旨在继续促进和引领生命科学领域的技术创新。

LTQ Velos 双压线性离子阱质谱

基于强大的创新传统, Thermo scientific LTQ

Velos 可提供显著改善的复杂样品分析性能。革命性的双重压力离子阱和 S -离子透镜相结合, 以提供更高的离子传输水平以及更高效率的离子俘获和分裂, 带来对几乎所有应用领域来说都是最快和最敏感的离子阱质谱。LTQ Velos ™是 LTQ 系列线性离子阱质谱仪家族中的最新成员。它提供了显著改善的数据采集速率、灵敏度和质量分辨率, 具有以下主要优势:

- S -离子透镜提高离子传输并缩短离子阱填充时间, 提高了仪器的灵敏度和数据采集速率。
- 更有效的双重压力离子阱, 同时增加扫描的速度和质量分辨率
- 自动增益控制预测功能降低了循环时间, 提高了数据采集速率
- 灵敏度和质量分辨率的改善为低浓度分析物的指认更增信心
- 综合性能的提高使复杂样品中同时进行识别, 结构鉴定和定量成为可能
- 支持升级到提供超高分辨率和出色的质量精度的 Orbitrap™ 技术

更多信息, 请访问:

www.thermo.com.cn/ltqvelos

Multifuge X1 & X3 离心产品和解决方案

Multifuge X1 & X3 系列离心机融合了众多创新的技术, 在离心性能、离心容量上引领市场潮流。Multifuge 系列使用专利的 Auto-lock III 转头自锁系统, 使得离心操作更方便、更安全。同时, 这两个产品系列在台式机上全面引入 Fiberlite 超轻碳纤转头, 实现更高的离心性能。Fiberlite 超轻碳纤转头还减少了对离心机马达的耗损, 降低能耗, 延长了离心机的使用寿命。Multifuge X1 & X3 系列专利的 Clickseal 防生物污染密封系统可有效防止气溶胶泄漏, 为操作者和环境提供生物安全保护。

Multifuge X1 & X3 系列具有市场领先的离心容量, 一次运行最多可离心 40 根 50ml 尖底离心管、196 根 5/7 采血管、或 28 块酶标板, 适合从事高通量生物学研究的实验室。Multifuge X1 & X3 系列通用性强, 具有多样的转头选择, 是包括细胞培养的各种研究实验室、药筛实验室、临床检验实验室等最佳的选择。

更多信息, 请访问 Multifuge 离心机产品专题:

www.thermo.com.cn/Product4425.html 和
www.thermo.com.cn/Product4426.html

干细胞培养新表面 UpCell / HydroCell

Thermo Scientific NUNC HydroCell 表面及 UpCell 表面是 NUNC 品牌最新推出的革命性的细胞培养新型表面，特别适用于干细胞研究应用和组织工程研究应用。

NUNC HydroCell 表面为一种具有更低蛋白吸附和更低细胞吸附的新型细胞培养表面，用于悬浮细胞的单细胞培养和细胞簇培养。Nunc HydroCell 产品表面是一层特殊的共价-固相、超级亲水性聚合物薄层，特殊设计旨在防止悬浮细胞对培养表面的非特异性贴附。某些敏感的悬浮细胞可能在培养过程中受到不必要的激活及分化信号刺激而产生不必要的贴壁现象。此外，Nunc HydroCell 表面对细胞培养基中的蛋白成分（包括培养时细胞分泌的蛋白）的吸附性也是极低的。使用 Nunc HydroCell 表面产品可以得到更均一化的悬浮细胞培养，可保证悬浮细胞的非贴壁状态，得到更高的细胞产率及细胞分泌蛋白产率，包括涉及单核细胞/巨噬细胞及多种干细胞的细胞培养技术。

NUNC UpCell 表面为一种温度诱导性收获单个细胞和组织工程细胞的新型细胞培养表面。该表面是一层特殊的均一的共价-固相 poly-NIPAAm 或 poly-PIPAAm 多聚物薄层。环境温度 37 oC 时该表面为轻度疏水性，适合细胞的贴附和生长，而在低于 32 oC 时该表面为转变为亲水性，表面将结合水分子并膨胀，从而将贴壁的细胞连同细胞下层细胞外基质（ECM）一同释放出来。被完整保留的细胞下层 ECM 确保收获到的连续细胞层具有完整的细胞极性、细胞-细胞连接、细胞层-细胞层间立体连接，以及细胞层与移植点之间的连接（无需纤维蛋白胶或缝合）。特殊设计使贴壁细胞在温度变化条件下快速从 UpCell 培养表面脱落。避免了使用酶法（胰酶）和细胞刮刀分离贴壁细胞对细胞的伤害，从而保持了细胞的活性和细胞表面受体及抗原的完整性。即使是其他方法非常难以分离的贴

壁细胞类型和连续细胞层也可以从 Nunc UpCell 表面轻松脱落分离，并且从 Nunc UpCell 表面收获的细胞层可以叠放培养，从而在无需支架和外源性材料的条件下就能建立三维组织模型和共培养，大大简化了细胞培养和组织工程技术。

Nunc HydroCell UpCell 产品包括无菌的细胞培养皿、96 孔细胞培养板、细胞培养多孔板，均带证书（通过无菌、无细胞毒性、无热源、功能批次一致性等测试的出厂证书）。

更多 Nunc HydroCell 产品信息，请访问
www.thermo.com/hydrocell

更多 Nunc UpCell 产品信息，请访问
www.thermo.com/upcell

Thermo Scientific Dhamacon® microRNAl 产品

microRNAs 是一调节基因表达的单链 RNA 分子，而 Dhamacon microRNA 产品——Dhamacon miRIDIAN® 是当前市场上最有效的调节 microRNA 水平的产品，它可为研究 microRNA 的功能和疾病状态下的基因失调的科学家们提供最有力的研究工具。

2009 年 3 月 18 日，Frost & Sullivan 公司在美国旧金山举办了 2009 医学技术与生命科学领域的颁奖盛典，赛默飞世尔科技凭借 Dhamacon microRNAl 产品和技术，将技术创新奖收入囊中。Frost & Sullivan 公司在其宣奖宣言中作了如下解说：“赛默飞世尔科技为了满足 microRNA 研究领域最受关注的基因功能分析的需要，不断技术创新，为研究者提供了目前最全面强大的 microRNA 研究工具，被授予此殊荣是实至名归。”

此外，Thermo Scientific Dhamacon 是全球第一个也是唯一一个可以提供 microRNA 特征分析和表达分析服务的公司。

欲了解具体会议日程安排请参见：

<http://www.thermo.com.cn/Activity38.html>

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, 为科学发展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)