

EBIOTECH

生物通技术周刊

第76期

2010年4月28日

全文下载

[技术前沿]

基于磁性的3D细胞培养技术

华人科学家又一项3D细胞培养的新技术

[PCR酶新品巡礼]

PCR酶新品巡礼之ABI：360度扩增

PCR酶新品巡礼之NEB：乱花渐欲迷人眼

PCR酶新品巡礼之Clontech：跳过样品制备

[新品速递]

新一轮测序风云再起 三款新仪器面世

Sigma再添2200种Prestige抗体

赛默飞世尔推出全新的ChIP试剂盒

生命科技公司推出第一款面向法医实验室的毛细管电泳测序系统

[应用指南]

超微量的SNP基因分型

利用两步法小体积移液快速制备梯度稀释的分析即用型微孔板

让Invitrogen伴随您的细胞重编程之路

冷泉港实验方案3月刊 聚焦杆状病毒展示文库

[行业动态]

联川生物隆重推介Seq-Array服务

TTP LabTech成功向阿斯利康交付一套全自动化学系统

QIAGEN和中国科技大学宣布成立‘凯杰新创基金讲席教授’席位

Fisher Scientific全面销售Acros Organics和Maybridge的产品

基于磁性的 3D 细胞培养技术

传统的二维细胞培养并不是细胞生长的天然状态，因而细胞的基因表达、信号转导和形态学都可能与天然有异。为了避免这些影响，研究人员一直在利用蛋白凝胶和生物反应器来开发三维的细胞培养基技术。最近，美国莱斯大学和德克萨斯大学 M.D. Anderson 癌症中心的研究人员阐明了一种更为简单的三维培养技术，文章发表在 3 月 14 日的《Nature Nanotechnology》上。

研究小组开发出一种生物装配器 (bioassembler)。这个系统使用磁力让细胞悬浮，并促使细胞生长成三维的形状。悬浮过程是基于一种生物无机的水凝胶 (hydrogel)，这种水凝胶由三部分组成：噬菌体、磁性氧化铁和金纳米颗粒。研究小组使用的噬菌体是 M13 来源的，展示了 RGD-4C 配体肽段，以靶定金纳米颗粒和磁性氧化铁。这种基于磁性环的技术与所有标准的培养技术兼容，因此可推广到大部分实验室。

为了构建培养系统，研究人员在包含细胞的水凝胶中加入了纳米颗粒和噬菌体。由于噬菌体上表达了配体肽段，它就能靶定纳米颗粒。当噬菌体感染细胞，也就将纳米颗粒运输到细胞内。研究人员随后洗掉凝胶，在充满基质的 Petri dish 中接种含有纳米颗粒的细胞。一旦细胞装有纳米颗粒，它们就会对磁力有反应，研究人员在 Petri dish 的顶部安装磁力环。

为了评估这种技术下的细胞生长，研究人员在 8 天的时间内肉眼观察并定量监测了人胶质母细胞瘤细胞的形成率、大小和存活率。他们利用红色荧光蛋白来监测细胞。

24 小时后，多细胞聚集物开始悬浮在液体中。在接下来的 72 小时到 192 小时，椭球体的最大直径达 1mm。在检测了胶质母细胞瘤体外产生的蛋白后，研究人员发现三维培养表达了适当的蛋白，而对应的二维培养没有。他们认为，三维培养适合这些肿瘤的研究。而二维培养中蛋白的缺乏，表明它不是研究癌症的有效方法。

莱斯大学生物工程系的副教授 Robert Raphael 认为：“这种方法的美就在于它利用天然的细胞间相互作用来驱动三维结构的形成。此方法相当简单，任何对药物开发、干细胞或再生医学感兴趣的实验室都可以此作为三维细胞培养的起点。”

这种三维组织培养有望应用在疾病研究上。M.D. Anderson 癌症中心的 Wadih Arap 教授表示：“对于癌症研究，磁场所产生的‘隐性支架’已经不再是单纯的细胞培养，而让它们更像真正的肿瘤。我们下一步将应用这种磁性来探索肿瘤成像和治疗上的应用。”（生物通 余亮）

华人科学家又一项 3D 细胞培养的新技术

生物通报道：来自俄亥俄州立大学 William G. Lowrie 化学与生物膜工程研究院的研究人员在三维细胞培养技术方面又获得了新成果，他们提出了一种新的培养细胞接种的方式，这将有助于 3D 细胞培养技术在实践中的更多应用，也有助于 3D 细胞培养技术往高通量筛选方面发展，这一研究成果公布在《Biotechnol Prog》杂志上。

领导这一研究的是华人科学家杨尚天教授，其长期从事生物工程和生物加工的研究和开发，特别是新型生物反应器的研发、生物催化、发酵、细胞培养、组织工程、生物芯片、生物传感器等方面具有很深的造诣。2007 年被聘为华南理工大学讲座教授。

传统细胞培养技术在模拟细胞体内生存环境方面做得还不够。3D 细胞培养技术则能在细胞培养过程中，为细胞提供一个更加接近体内生存条件的微环境。这种技术在基础科学的研究和制药研究中极大地提高了细胞实验的准确性，而且随着培养原料的数量和复杂度的增加，3D 细胞培养技术的应用也会随之增加。

杨博士在细胞培养方面获得了许多新成果，比如 06 年其研究组就开发了一种组织生长设备（*tissue-growing device*），能够用于培养成人干细胞，并且能够使研究人员对培养过程中的每个胚胎干细胞进行紧密跟踪。新型 *bioreactor* 有两个格室（chamber），一个格室内包含可以支持干细胞生长的高聚物螺纹，一个格室内含有液态培养基。这种液态培养基能够向干细胞传递炎症因子，维持干细胞未分化状态。

实验过程中，研究人员分别在 flask 中（传统细胞培养方法）和 bioreactor 中的标准高聚物螺纹（strands of polymer threads，生物通编者译）上培养小鼠干细胞。用 flask 和用 bioreactor 培养干细胞的不同之处在于：细胞在 bioreactor 中能够向

三维空间生长，而在 flask 的底部平面上只能向二维平面上生长。

在这一基础上，杨博士发展了 3D 细胞培养技术，并利用这一技术培养包括人胚胎干细胞和结肠癌细胞在内的许多不同类型的人源细胞。但是细胞接种仍是 3D 细胞培养技术中的一个难题，因为利用非织造布用纤维聚乙烯对苯二甲酸酯 PET 这一材料进行细胞接种是组织工程，细胞培养过程中的困难环节。

在这篇文章中，研究人员提出了一种新型离心接种方法，这种方面利用两种不同的多孔性（93% 和 88%）可以提高 PET 材料中细胞的接种效率，其中离心力和离心时间都可以影响接种效率。优化离心速度后，可以达到高至 80%-90% 的细胞接种效率，而且时间也只是需要不到 5 分钟的时间。

研究人员发现不同孔材料的接种效率相近，不过疏孔架能最佳缩短接种的时间。并且他们还在结肠癌细胞的培养过程中证明了这一方面的有效性。这种方法有助于 3D 细胞培养技术往高通量筛选方面发展，也有利于这一技术更有效的用于各个方面。

3D 细胞培养技术得到的细胞形态比 2D 培养的更加精确，并且细胞形态常常对细胞的功能（信号转导等）产生影响。杨博士已经开始通过他的 3D 细胞培养系统来筛选抗癌药物。但是他通过比较 2D 培养和 3D 培养的细胞对已知的抗结肠癌药物——5-氟尿嘧啶——的反应来检验他的 3D 培

养系统的有效性。他认为，总的来讲，3D 培养的细胞对药物的抗性更强，其部分原因在于细胞周期行为的差异，差异的细胞标记表达等等。从这些实验中，他推断：一般来讲，3D 培养细胞的药物反应更加接近体内的情况，因此，在此基础上的药物筛选也更加可靠。

除此之外，来自伦斯勒理工学院的研究人员也利用这一技术作为先导优化的一种筛选工具，并将其用来对培养皿上代表人类不同器官的细胞进行药物潜在毒性的检测。他们在一种凝胶状的，生物兼容的并且使用方便的藻酸盐基质上进行细胞培养。藻酸盐之所以使用方便，就是在于研究者可以通过添加钙或者钡来调节它的凝胶化。而且，藻酸盐的使用使 Dordick 向培养基中添加生长因子成为可能；比如，在他的小组开始培养干细胞的时候，这个特征就显得很重要了。

(生物通：万纹)

原文检索：

Centrifugal seeding of mammalian cells in nonwoven fibrous matrices.

Ng R, Gurm JS, Yang ST.

William G. Lowrie Dept. of Chemical and Biomolecular Engineering, The Ohio State University, Columbus, OH 43210, USA.

Three-dimensional (3D) cell cultures have many advantages over two-dimensional cultures. However, seeding cells in 3D scaffolds such as nonwoven fibrous polyethylene terephthalate (PET) matrices has been a challenge task in tissue engineering and cell culture bioprocessing. In this study, a centrifugal seeding method was investigated to improve the cell seeding efficiency in PET matrices with two different

porosities (93% and 88%). Both the centrifugal force and centrifugation time were found to affect the seeding efficiency. With an appropriate centrifugation speed, a high 80-90% cell seeding efficiency was achieved and the time to reach this high seeding efficiency was less than 5 min. The seeding efficiency was similar for matrices with different porosities, although the optimal seeding time was significantly shorter for the low-porosity scaffold. Post seeding cell viability was demonstrated by culturing colon cancer cells seeded in PET matrices for over 5 days. The centrifugal seeding method developed in this work can be used to efficiently and uniformly seed small fibrous scaffolds for applications in 3D cell-based assays for high-throughput screening. (c) 2009 American Institute of Chemical Engineers Biotechnol. Prog., 2010.

作者简介：

杨尚天教授是美国俄亥俄州立大学化学工程与生物分子工程系教授，长期从事生物工程和生物加工的研究和开发，特别是新型生物反应器的研发、生物催化、发酵、细胞培养、组织工程、生物芯片、生物传感器等方面具有很深的造诣。担任 5 个国际学术刊物的编委或顾问编辑和 4 个国际著名刊物的审稿人。历任多个国际知名研究院或大学的客座教授。同时担任美国农业部、美国能源部、美国化学协会石油研究基金会、香港研究基金委员会等项目评审专家。现任美国国家健康研究院（NIH）生物工程科技纳米技术研究部顾问团成员。近五年，发表 SCI 收录论文 41 篇，EI 收录 35 篇，出版学术专著 14 部，承担的科研项目 24 项，科研研经费达 450 万美元，获得美国专利 2 项。曾获美国中部华人学人协会突出贡献奖。2007 年，当选美国医学和生物工程院 Fellow。

PCR 酶新品巡礼之 ABI: 360 度扩增

作为 PCR 技术的原创发明者，ABI 公司一直以 PCR 为傲。无论是试剂还是仪器，ABI 都一直引领着 PCR 的发展方向。说到 ABI 的 Taq 酶，每个人都会想到大名鼎鼎的金牌酶-AmpliTaq Gold。此酶俨然 ABI 定量 PCR 试剂中的金字招牌，尽管价格不菲，却还是定量 PCR 用户的首选。另外一种 AmpliTaq DNA 聚合酶也是用户基础庞大，你也许猜不到，它还是世界上引用次数最多的 DNA 聚合酶。照理说，有了这两个明星产品，ABI 完全可以躺在功劳簿上睡大觉，但如果真是那样，就绝非我们所认识的 ABI 了。

这家以创新为灵魂的公司继续在 PCR 领域创新，推出了全新的 AmpliTaq[®] 360 家族产品，包括 AmpliTaq[®] 360 和 AmpliTaq[®] Gold 360 DNA 聚合酶，分别作为 AmpliTaq 和 AmpliTaq Gold 的升级。360 意味着为您打造 360 度的全方位扩增空间，从日常到更具挑战性的模板。新产品与老产品相比，性能有了全面提升。首先是纯度更高，细菌 DNA 减少，其次与 360 GC 增强剂和全新的缓冲液共同使用，PCR 成功扩增的几率更高。

这两个系列的 DNA 聚合酶都可以单独购买，或与改良版的缓冲液试剂盒共同购进，缓冲液试剂盒包括全新的 AmpliTaq (或 AmpliTaq Gold) 360 缓冲液、MgCl₂ 及 360 GC 增强剂。AmpliTaq Gold 360 还有方便使用的 2×Master Mix 形式。

360 GC 增强剂

360 GC 增强剂可是个新面孔，以前不曾见过，那咱们就从它说起吧。顾名思义，它肯定和 GC 含量有关。360 GC 增强剂适用于难扩增的模板，尤其是 GC 含量高或 GC 重复多的模板。增强剂还增加了反应的特异性，避免局部 GC 含量高的模板产生非特异的产物。你可以调整 360 GC 增强剂的用量，来优化 PCR 反应。如果反应中出现非特异产物，可以添加少量的增强剂。如果模板的 GC 含量高，可能需要更多的增强剂。

生物通提示：在初次扩增时，不要添加 360 GC 增强剂。如果扩增失败或出现非特异的产物，可以添加适量的 360 GC 增强剂。如果是减少非特异条带，增强剂的比例为 2-5% (体积比)。如果 GC 含量在 65% 以上，建议从 10% 的比例开始摸索。GC 含量越高，比例越大。不过，需要提醒的是，对于某些非富含 GC 的模板序列，360 GC 增强剂的使用可能会降低产量。

AmpliTaq (Gold) 360 DNA 聚合酶

AmpliTaq 360 DNA 聚合酶，在与全新的 AmpliTaq 360 缓冲液及可选的 360 GC 增强剂共同使用时，能扩增超大范围的 DNA 序列模板。常规模板自不必说，关键就要看富有挑战性的困难模板，大家好，才是真的好！

对于富含 AT、富含 GC、形成引物二聚体的序列等困难重重的序列，过去需要多次优化，而现在只用 AmpliTaq 360 DNA 聚合酶在标准条件下就能重复扩增。通过 40 多个目标序列的竞争性标杆分析，表明 AmpliTaq 360 DNA 聚合酶具有最佳性能，能确保日常及挑战性目标的成功扩增几率最大。

与先前的版本相比，AmpliTaq 360 系列的 DNA 聚合酶经过了一步额外的纯化，去除了污染

的细菌 DNA。于是，至纯的酶，再加上验证和优化过的缓冲液系统，赋予了它们无与伦比的灵敏度。360 系列的 DNA 聚合酶能有效扩增低拷贝数的目标，因此特别适于低拷贝的病原体检测，和部分降解的 DNA 样品中目标的扩增。

AmpliTaq Gold 360 DNA 聚合酶与 AmpliTaq 360 DNA 聚合酶大体相似，不过前者多了个热启动的特性。室温下无活性，需要一个高温孵育步骤来激活聚合酶，确保酶只在 DNA 完全变性后才有活性。这样保证了反应的特异性，在室温下配置 PCR 反应时，也无需顾虑引物的错误延伸。随着循环数的增加，反应中 DNA 聚合酶的量也缓慢增加，特异产物的量也在增多，而没有非特异产物的积累。这种杰出的特异性非常适合多重分析和等位基因分辨。

测序也是金牌酶的一大应用。将原先的 AmpliTaq Gold DNA 聚合酶和 AmpliTaq Gold 360 DNA 聚合酶所获得的测序结果相比，结果相当或后者更佳。对于某些金牌酶无法扩增的模板，AmpliTaq Gold 360 DNA 聚合酶与 360 GC 增强剂的组合也获得了漂亮的测序结果。

不过，美中不足的是，这两种 DNA 聚合酶只能对付 5 kb 以下的序列。对于人类基因组 DNA，它们能有效地扩增最多 3 kb，质粒 DNA 则达到 5 kb，再长的片段就无能为力了。至于超长的片段，您可以选择 ABI 公司的 GeneAmp XL PCR Kit，它就是专为 5-40 kb 的片段而设计的。

NIH 的甲基化研究

美国国立卫生研究院的 Lawrence Brody 博士和 Patricia Porter-Gill 女士最近正在研究叶酸对甲

基化状态的影响。他们需要扩增 1000 bp 或更长的富含 GC 的序列。然而，他们目前使用的 DNA 聚合酶无法通读这些片段。于是，Brody 和 Porter-Gill 选择了 ABI 的新产品 AmpliTaq Gold 360 Master Mix。

他们的 PCR 扩增是两方面的，既要在亚硫酸氢盐处理之前扩增野生型的富含 GC 序列，又要在处理之后利用亚硫酸氢盐转化的引物扩增相同的区域。由于亚硫酸氢盐处理过的 DNA 相对不稳定，大部分聚合酶都很难在这些长的 CpG 岛上移动，这让基因组扩增陷入了困境。然而，AmpliTaq Gold 360 Master Mix 却轻松扩增了 800-900 bp 的 CpG 岛，1100 bp 的靶点也能成功扩增。扩增子测序后，Brody 和 Porter-Gill 在存在甲基化的 CpG 岛位置发现了 C 碱基，并能够定量甲基化的程度。

Brody 博士和 Patricia Porter-Gill 认为，“1000 bp CpG 岛的成功扩增是相当了不起的。这种新能力让我们开始着手更大的问题。最终，我们想建立每个感兴趣基因的甲基化图谱，确切地显示甲基化存在于启动子的哪个区域。”

现在，你终于相信 AmpliTaq 360 系列 DNA 聚合酶的威力了吧。如果您正在从事与 Brody 博士类似的甲基化研究，或者也有着难以对付的 DNA 模板，那就快快来尝试一下吧。[点击索取更多资料！](#)

(生物通 余亮)

[PCR酶新品巡礼之NEB：乱花渐欲迷人眼](#)

[PCR酶新品巡礼之Clontech：跳过样品制备](#)

PCR 酶新品巡礼之 NEB: 乱花渐欲迷人眼

这一回我们来瞧瞧 NEB 公司这几年推出了哪些 PCR 酶新品吧。NEB 真不愧为老牌的酶类产品供应商，各种各样的酶，那可不是一般的多。登陆它的网站，光是聚合酶，就有整整一大页，常规 PCR、快速 PCR、长距离 PCR、高保真 PCR、多重 PCR，每个子目录下都有一长串产品。幸亏小编找到了 PCR 聚合酶选择表，上面清楚地列出了保真度、片段长度、延伸速率、外切酶活性等各项参数，否则三天三夜也搞不清楚。

比你想象的更长

大家也许还对去年生物通首页上的长颈鹿广告记忆犹新吧，一只可爱的长颈鹿高耸云端，“比您想象的更长”，这就是 NEB 的 LongAmp™ DNA 聚合酶。LongAmp™ DNA 聚合酶是一种新型混合酶，混合有 NEB 高品质 Taq 和广受欢迎的高保真聚合酶 Deep Vent，因而既具有 Taq 酶的高扩增能力，也具有 Deep Vent 的高保真性，是扩增长片段 DNA 的首选酶。

至于到底有多长，lambda DNA 可扩增至 40 kb，基因组 DNA 可扩增至 30 kb。因为含有高保真聚合酶 Deep Vent，所以保真度是 Taq 酶的 2 倍。延伸速率也比普通的 Taq 酶略高，达 1.2 kb/min。提醒一下，由于是混合酶，PCR 产物则部分是带 A 尾巴的，部分是平末端的。如果下一步要转到 TA 克隆，有必要进行加 A 操作。

无可挑剔的 Phusion II 代

Phusion® II 热启动超保真 DNA 聚合酶是去年底才推出的新品，由 Finnzymes 公司开发和生产，NEB 来销售。它秉承了 Phusion 系列 DNA 聚合酶的超保真度，错配率比 Taq 低 50 倍，比 Pfu 低 6 倍，是目前市场上保真度最高的热稳定聚合酶之一。而且它合成 DNA 的速度是以往任何单一酶都难以实现的，即使是最复杂的模板，也能

准确、快速地完成反应。每 kb 碱基的延伸时间低至 15-30 秒。

在常温下，Phusion® II 热启动超保真 DNA 聚合酶与一种 Affibody® 分子可逆结合，因而失活。PCR 循环开始后，酶立刻重新激活。升级版的 II 代 Phusion® 热启动超保真 DNA 聚合酶所使用的 Affibody 分子对退火步骤的温度没有限制，因此允许使用的引物更宽了，包括那些熔解温度低的引物。这种酶还对 PCR 抑制剂有着高耐受性，让您所需的优化极少。

超保真+速度快+热启动+20 kb 的扩增子长度，真是一种无可挑剔的 DNA 聚合酶。无论您的要求多么苛刻，相信它都能满足。

快，快，快！

近年来，PCR 的一个趋势就是快，不求最快，只求更快。无论是仪器还是酶，都在朝这方面努力。仪器的升降温更快了，酶的延伸速率更高了。此外，研究人员还另辟蹊径，尽量去除不必要的步骤，譬如不提取 DNA，而是直接从细胞或组织中扩增目的片段。这样不仅能节省时间和试剂，还能最大程度地避免污染。然而，从血液或组织中直接扩增 DNA 也是颇具挑战性的，因为样品中存在抑制剂。NEB 也顺应潮流，开发出几种具有此功能的聚合酶和试剂盒。

Hemo KlenTaq™ 就是其中的一例。从名字可以大致猜出，它适用的样品是血液。Hemo KlenTaq 是截短后的 Taq DNA 聚合酶，它缺失了 N 端的 280 个氨基酸。Hemo KlenTaq 还具有其它突变，这些突变使它能够耐受全血中存在的抑制剂。因此，它能够耐受高达 10% 的全血。无需事先提纯，Hemo KlenTaq 也能够扩增人和小鼠全血样品中的 DNA。在大多数抗凝剂存在的情况下依然表现良好，包括肝素、柠檬酸和 EDTA。

同时，Phusion™ 血源 PCR 试剂盒也是为全血中 DNA 的扩增而设计的。它在 PCR 前无需纯化 DNA。试剂盒中含有经过改造的 Phusion 热启动超保真 DNA 聚合酶，适合保真度要求高的实验。此酶掺入率高，聚合能力强，能够耐受血液

中存在的抑制剂，甚至当血液浓度高达 40% 时依然保持活性。Phusion 血源 PCR 试剂盒能够对含有不同抗凝剂、贮存于不同条件下以及不同来源的血液样品进行分析，它还能够分析滤纸上的血液样品。

以上介绍了NEB的一些新品，它的PCR聚合酶远不止以上几种。为了避免您被NEB庞大的聚合酶家族吓到，小编特意贴上了PCR聚合酶选择指南，方便您根据实际应用来选择。如果您仍是一筹莫展，请[点击此处留言](#)，NEB的技术人员会与您联系。（生物通 余亮）

[**PCR酶新品巡礼之ABI：360度扩增**](#)

[**PCR酶新品巡礼之Clontech：跳过样品制备**](#)

PCR 酶新品巡礼之 Clontech: 跳过样品制备

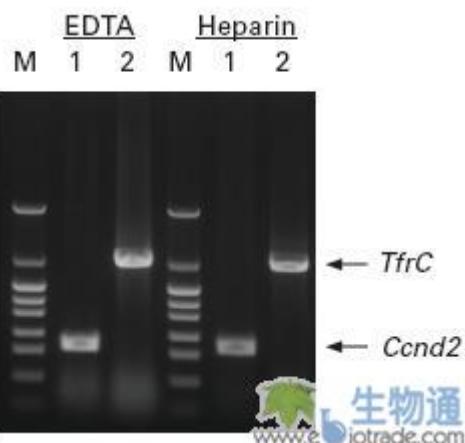
PCR 要想快，方法有很多种，比如买一台快速的 PCR 仪，再搭配个快速的 PCR 酶。不过，这快的代价可不小，一般的实验室可能难以承受。有没有一些更靠谱的方法呢，既加快实验进程，又节省经费？于是，研究人员决定从 PCR 上游的样品制备入手，试图跳过 DNA 提取和纯化，直接对样品进行 PCR 扩增。尽管样品中存在一些 PCR 抑制剂，但如今的 PCR 酶如此强大，理应能跨过这些障碍。

Clontech 公司新近推出的 Terra™ PCR Direct Polymerase Mix 正是这样一种新颖的聚合酶。它能够让您跳过 DNA 提取和纯化，从血液、动物和植物组织等模板中直接扩增目的片段。这种高度灵敏的 DNA 聚合酶不仅能帮您节省宝贵的时间和经费，还让您节省宝贵的样品。如果样品本身非常少的话，那可经不起纯化的折腾，直接扩增或许效果更好。

Terra PCR Direct 中带有单克隆抗体，是一种热启动的 PCR。它非常适合扩增短的 DNA 片段（2 kb 以下），而不论模板纯度和 GC 含量。即使 GC 含量高于 70%，它也能成功扩增。说了这么多，也许您还是对它的性能将信将疑，那么下面举几个例子，事实胜于雄辩。[点击索取详细技术资料](#)

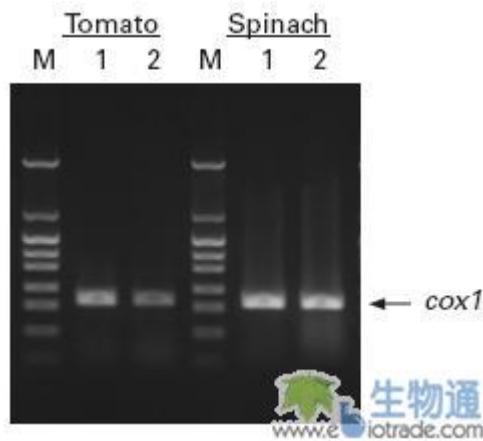
血液

从 EDTA 或肝素处理过的小鼠血液中直接扩增靶点。取 1 μ l EDTA 或肝素处理过的血液，用 Terra PCR Direct 扩增 cyclin D2 基因（Ccnd2, 0.5 kb）和转铁蛋白受体基因（TfrC, 2 kb）。PCR 反应体系为 20 μ l（血液占 5%），反应过程为经典的 3 步法，30 个循环。取 3 μ l 产物进行电泳。如图 1 所示，Terra PCR Direct 能够从血液样品中扩增出靶点。



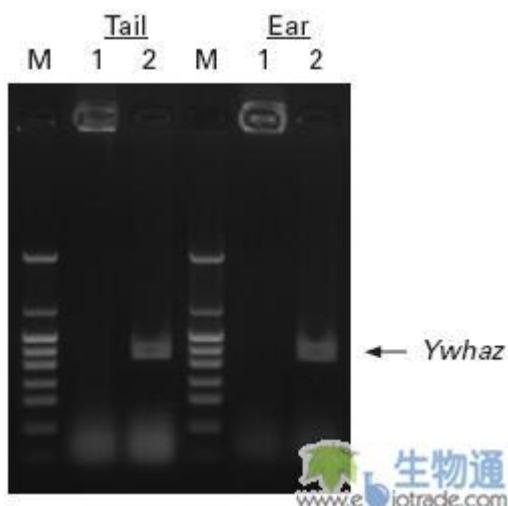
植物

从西红柿和菠菜叶子中直接扩增靶点。取西红柿和菠菜叶子，用打孔机打成 0.5 mm（第 1 道）和 1.2 mm（第 2 道）的圆片。用 Terra PCR Direct 从中扩增细胞色素氧化酶基因（cox1, 0.5 kb）。将圆片直接置于 20 μ l 反应体系中，并进行扩增；取 5 μ l 反应产物，跑电泳（图 2）。Terra PCR 也能够从大的和小的叶子样品中扩增出 cox1。



组织

从小鼠尾巴和耳朵组织中直接扩增靶点。取 1mm 鼠尾活检样本和 1.5mm² 小鼠耳朵活检样本，用 Terra PCR Direct 直接扩增 Ywhaz1(1kb)。将这些组织直接置于 50μl 反应体系中，并进行扩增。PCR 结束之后，各取 4μl 与缺乏或包含蛋白酶 K 的上样缓冲液（分别为第 1 道和第 2 道）混合，然后跑电泳。如图 3 所示，用蛋白酶 K 处理过的 PCR 产物如期跑动（第 2 道），而未经过处理的 PCR 产物则滞留在点样孔里（第 1 道）。



看过上面这些例子，现在您终于相信 Terra PCR Direct 的强大了吧。要不然，您也来试试？如果效果确实不俗的话，想必那些生产核酸纯化试剂盒的厂家得郁闷好一阵子。（生物通 余亮）

[PCR酶新品巡礼之ABI：360度扩增](#)

[PCR酶新品巡礼之NEB：乱花渐欲迷人眼](#)

新一轮测序风云再起 三款新仪器面世

每一年的基因组生物学技术进展年会 (AGBT)，都成为各大测序公司和基因组学公司争相宣布即将发布的技术或展示新数据的平台。基因组学领域的研究人员也济济一堂，急于了解这些技术的新进展。今年的 AGBT 在美国佛罗里达州的马可岛召开。会议上有几家公司都宣布推出新的测序系统，其中有第三代的单分子测序仪，也有当前测序仪的升级。

Pacific Biosciences

Pacific Biosciences 就是这其中的一家。第一代的 Pacbio RS 测序仪将会在 2010 年第二季度发送给客户。会上，Pacific Biosciences 技术总监 Stephen Turner 的报告颇为激动人心。新仪器的单个读长已达 10351 个碱基，Turner 宣称，他们内部试验的读长甚至达到 2 万个碱基，这远远超过了目前新一代测序仪的几百个碱基。不过，有必要说明一下，只有一小部分读数能真正达到这么长。用户能自行决定仪器运行多久。短运行将产生大量的短读数，更长的运行将产生少量非常长的读数。

通过测序之前的模板环化，就能够在单次运行中对同一个分子进行多次测序，产生非常准确的序列读数。至于它的错误率是多少，Turner 没有明说。这个测序平台看上去也相当易用：样品放入一个抽屉，测序盒放入另一个抽屉，仪器内的自动化液体处理系统干完剩下的一切，手工操作极少。

Applied Biosystems

会议上，Applied Biosystems 介绍了两款新仪器，一款是 SOLiD 系统的升级-SOLiD 4，另一款则是全新的单分子测序仪。根据生命科技公司科学运营部门的高级主管 Kevin McKernan 的报告，在早期测试阶段，SOLiD 4 能够在单次运行中产生 120 GB 以上的原始数据，其中 87 GB 的可作图数据。这样，研究人员就能在单次运行中对两个人类

基因组进行测序，覆盖度在 10-20 倍。根据 McKernan 的说法，如果磁珠大小能减少到 500 nm，那么测序通量有望超过 330 GB。[点击索取更多资料！](#)

除了 SOLiD 系统的升级，Applied Biosystems 还在开发另一项单分子测序技术。这项技术使用 Qdot 纳米晶体作为核心的测序引擎。专为测序而设计的纳米晶体，与 DNA 聚合酶分子相连。该系统监测核苷酸实时掺入到增长的 DNA 链中。随着核苷酸的掺入，Qdot 纳米晶体的光子转移提供能量，产生了特有的彩色荧光。测序系统记录了发光的时间和颜色，以确定每条 DNA 链的 DNA 序列。

该技术的特别之处在于理论上它能产生无限制的读长。生命科技公司的技术总监 Joseph Beechem 指出，运行可中途打断，洗掉现有的聚合酶分子，并替换成新的，从而替换掉化学损伤失活的分子。替换之后，链继续延伸，这意味着理论上洗脱-替换的过程能反复进行，直到你测序完毕。如果这是真的，那么这种无限读长将会深刻地改变基因组学。不过，目前还没有错误率和通量的具体数字。今年第四季度，这种单分子测序仪就将运抵早期合作者的实验室，相信我们很快就能看到获得这些数字。

Ion Torrent

它是本次年会上最大的惊喜之一。**Ion Torrent**似乎一直默默无闻，却在会上推出了一款廉价小巧的新一代测序仪。当核苷酸加入到增长的 DNA 链时，氢离子释放，**Ion Torrent** 的设计正是依赖这一点。新平台在半导体芯片的微孔中固定 DNA 链，随后依次掺入 ACGT。随着每个碱基的掺入，释放出氢离子，在它们穿过每个孔底部时能被检测到。

与其它新一代测序仪相比，**Ion Torrent** 的测序仪非常小巧，而且也很便宜，仪器的价格约为 5 万

美元，每次运行时试剂和样品制备的价格约为 500 美元。当然，这指的是美国本土的价格。最初的读长为 100 bp。测序通量为每次运行 150 Mb，暂不足以与其他测序仪抗衡，但其价格相当有吸引力。

上述仪器，今年都会面世。让我们拭目以待，看看它们是否能改写测序历史吧。

(生物通 余亮)

Sigma 再添 2200 种 Prestige 抗体

Sigma-Aldrich 公司旗下创新的生物学产品及服务品牌 Sigma(R) Life Science 近日宣布，Prestige 抗体阵营再度扩大，又添加了 2200 种新的 Prestige 抗体。到目前为止，Sigma Life Science 的 Prestige 抗体总数达 8300 种，覆盖了 6900 个人类蛋白靶点，而且该公司的单克隆和多克隆抗体总数已逾 30000。

Prestige 抗体是由 Human Protein Atlas (HPA) 项目验证的，并通过与 Sigma-Aldrich 以及 Atlas Antibodies 的合作将这些新抗体商业化。Human Protein Atlas 的目标是到 2015 年让所有 20265 个非冗余人类蛋白都至少有一个抗体。Prestige 抗体的特异性经过严格验证，与其他人类蛋白的交叉反应较低。每种 Prestige 抗体有 700 多张免疫组织化学、免疫荧光和 Western blot 图片。所有这些图片及数据都可以在 Human Protein Atlas(www.proteinatlas.org)上找到。

Sigma-Aldrich 公司与 Atlas Antibodies 自 2008 年 2 月合作以来，已是第四波大规模推出 Prestige 抗体。根据他们的合作协议，两家公司共享在欧洲的独家销售权，而 Sigma-Aldrich 则是北美、亚太地区和拉丁美洲地区的独家经销商。

Sigma Life Science 负责抗体的产品经理 Becki Davis 评论道：“成功的生物学研究依靠高质量的试剂，用于蛋白鉴定、功能研究和细胞分析。这次 Prestige 抗体的扩展，让我们提供了最大、最优质的选择。此外，Prestige 抗体是标准化的，有着通用的流程，让研究更高效。”

[索取 Prestige 抗体的更多技术资料！](#)

Prestige 抗体的特点：

- 经权威认证——由国际性的人类蛋白质组学组织 (HPA) 设计并验证，目前抗体品种为 8300 种

- 更高特异性——虽然是多抗，但由于设计和生产的特点，能够达到单抗的特异性，精确分辨不同的抗原
- 可直接使用——提供统一的免疫组化方法，几乎不需要条件优化，适合高通量实验
- 验证数据全面——每个抗体都经过全面的应用验证，验证样品包括数十种组织、细胞、不同的疾病状态

另外，Sigma-Aldrich 公司将于 2010 年 4 月 21 日在上海举办第一届干细胞技术（中国）培训班，内容将覆盖干细胞研究相关的最新研究发展以及新技术。

课程安排如下：

课程讲授人：

高绍荣	研究员	北京生命科学院研究所
Huck Hui NG	Senior Group Leader	Genome Institute of Singapore
Bonghee Lee	Director and Professor	Center for Genomic and Proteomics Stem Cell Core Facility; Lee Gil Ya Cancer and Diabetes Institute; Gachon University of Medicine and Science, Incheon, Korea
Trevor Collingwood	Top scientist in ZFN application	Sigma-Aldrich USA
Trevor Collingwood	Top scientist in ZFN application	Sigma-Aldrich USA
曹胜蓝	Product Specialist	Sigma-Aldrich China

本次会议不收取任何会务费。欢迎登陆

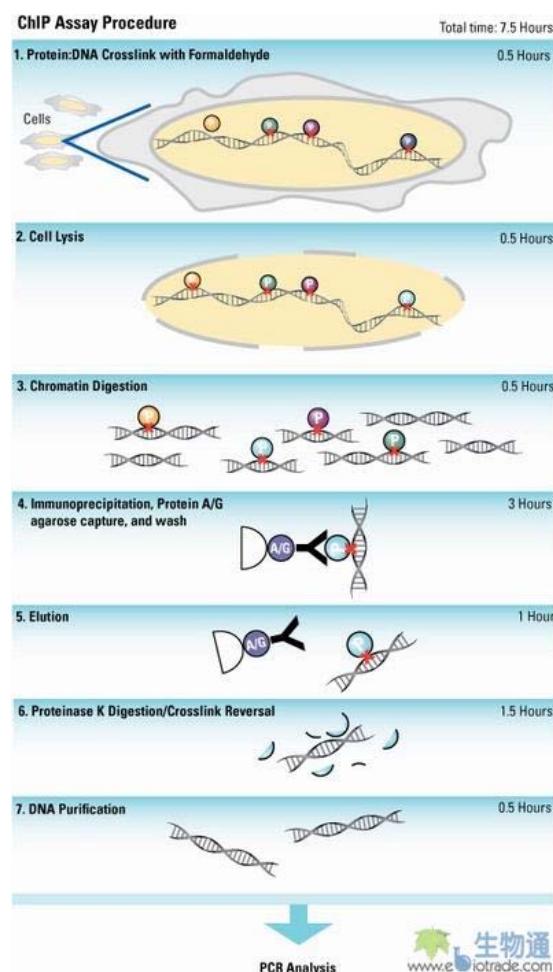
<http://www.ebiotrade.com/custom/Sigma/100323/index.htm> 在线报名。

赛默飞世尔推出全新的 ChIP 试剂盒

赛默飞世尔科技近日推出了全新的 Pierce Agarose ChIP Kit，用于快速且重复性高的染色质免疫沉淀（ChIP）分析。ChIP 分析通过监测转录调控或转录因子-DNA 结合的相互作用，来连接基因组学和蛋白质组学。与传统的 EMSA 技术相比，ChIP 分析的强项在于更真实地反映了体内 DNA 与蛋白质的相互作用，并利用标准或定量 PCR 定量这种相互作用。

ChIP 分析的原理很简单，就是选择性地富集包含某一特定抗原的染色质片段。传统的 ChIP 包含以下几个步骤：甲醛处理使蛋白质与 DNA 交联；超声波将染色质打断成一定大小；通过抗体沉淀蛋白-DNA 交联复合体；用蛋白酶 K 处理，解除交联，纯化 DNA；实时定量 PCR 检测 DNA 的量。虽然 ChIP 技术的原理并不复杂，但是对技术的要求高，每一步都需要长时间的优化。传统的方法可能需要 2-4 天。

Pierce Agarose ChIP Kit 则简化了整个过程，让您在 8 小时内轻松获得准确的结果。Pierce Agarose ChIP Kit 的整个流程如下图所示。传统的超声破碎方法结果不一，故新的试剂盒采用专门滴定的微球菌核酸酶来消化 DNA。酶切消化的优势在于消化的重复性好，易控制反应。而 ChIP 级别的 Pierce Protein A/G Plus Agarose 树脂的结合力高，背景低。免疫沉淀时，洗涤和洗脱步骤都在附带的离心柱中开展，不仅方便快速，且样品损失最小。利用这些经过优化的柱和试剂，Pierce Agarose ChIP Kit 提供了一种简化的方法来实现交联/反交联，蛋白消化，免疫沉淀和 DNA 纯化。



试剂盒包含了开展实验所需的所有试剂，包括染色质制备模块（其中有核酸酶、蛋白酶 K、蛋白酶抑制剂及各种缓冲液等），Protein A/G Plus Agarose 树脂，离心柱，及各种缓冲液。当然，不包括抗体。试剂盒中还包含了高度特异的阳性对照试剂，有 RNA 聚合酶 II 的抗体和 GAPDH 的 PCR 引物。

每个 Pierce Agarose ChIP Kit 足够使用 30 次。其中，Chromatin Prep Module, ChIP Protein A/G Plus Agarose 和蛋白酶 K 也可单独购买。由

于是新品上市，目前暂未查到价格。请点击此处索取说明书和报价。（生物通 余亮）

[Thermo Scientific Novus 中文版电动移液器 6.8 折促销，点击索取详细资料](#)

生命科技公司推出第一款面向法医实验室的毛细管电泳测序系统

生命科技公司近日在美国法医科学家学会的第 62 届年会上宣布推出一款专为法医实验室设计的基因分析仪，它优化了数据质量，增加了可靠性、易用性和多个性能。3500 系列基因分析仪是 Applied Biosystems 行业领先的毛细管电泳（CE）系统产品线中最新的进展，被认为具有最高水平的数据质量和可靠性，能支持人类鉴定（HID）应用的流程。

尽管 DNA 分析已经被大众和法律界所广泛接受，但法医实验室的专家仍面临种种挑战，包括时间和费用的限制。3500 系列基因分析仪的引入，为法医科学家提供了完整的 HID 系统方案，包括验证过的 HID 试剂、耗材和软件，让科学家们能轻松生成高质量的数据，显著提高 HID 实验室的工作效率和信心。

3500（8 道毛细管）和 3500XL（24 道毛细管）基因分析仪在现有的几乎所有类别的毛细管电泳系统上进行了改良，包括硬件、消耗品和软件等多方面。在整个工作流程中，从仪器设置到数据评估，3500 系列融入了创新的设计优化，以协助优化数据质量，并使可靠性、性能、质量保证和易用性增加。

3500 的加热室经过重新设计，提供了改良的温度控制，实现了注射中和注射间的可再现的筛分精确性。新近设计的加热室更加小巧，门的密封和锁定装置也经过了改良。再加上预热选项和温度可控的检测单元加热器，这些特征帮助维持阵列上的温度一致，并减少室温波动的影响。在阴极端，阵列重新设计后，针的长度更短，新阵列隔膜让毛细管与周围空气的接触最少。这些导热子系统的改良实现了 AmpFISTR® 试剂盒运行模块的开发和优化，让运行时间更短。

3500 数据采集软件是首个特地为 HID 工作流程而开发的。软件在用户友好导航上开创了新局面，有着直观的仪表盘设计，显而易见的常规操作按钮，易读取的图表显示，来监控消耗品的状态，以及手工维护日程安排的功能。使用工作流程驱动的用户界面，软件带着用户一步一步地操作，从设置运行，实时的数据质量评估和样品再次注射。这

些特征显著缩短了初始的学习时间并简化了日常工作的执行。

3500 数据采集软件预先设有适合 AmpFISTR® 试剂盒的验证过的步骤。在启动运行时，用户只需选择 HID 特异的模板，手工输入或导入样品信息，并从预先设定的分析列表中指定样品的分析。

作为 HID 完整系统方案中的一部分，生命科技公司还宣布推出了一系列新一代的法医 DNA 试剂盒，能从更广泛的样品中更快速地回收结果，且灵敏度和性能改善。AmpFISTR® Identifiler Direct、Identifiler Plus 及 NGM PCR 扩增试剂盒与 3500 系列结合，让性能、效率和数据质量上升到一个新水平。

AmpFISTR® Identifiler® Plus 试剂盒采用与广泛使用的 Identifiler® 试剂盒相同的引物，利用新一代 PCR 扩增技术来实现新水平的性能、数据质量和效率。这帮助法医分析人员从富有挑战性的分析样品中回收更多可解释的结果，且更自信。NGM™ PCR 扩增试剂盒则同时扩增 SGM Plus® 试剂盒的位点和扩展的欧洲标准品组中 5 个额外的位点。

生命科技公司人类鉴定的总裁 Leonard Klevan 博士表示：“将我们新一代基因分析系统上的创新与分析试剂盒的改进结合起来，将显著提高人类鉴定流程的效率，并最终减轻法医科学家面临的挑战。我们预计我们的工具和技术将在预防多种暴力和非暴力犯罪上扮演主要角色。”（生物通 余亮）

[Alexa Fluor 二抗小包装新上市，购物送礼！](#)

超微量的 SNP 基因分型

Tom Edwards 1, Dr Martin Yuille 2, Justin Brooking 2

1 TTP LabTech Ltd, Royston, UK

2 MRC geneservice, Babraham, UK

背景

聚合酶链式反应（PCR）是很多技术的基础，如单核苷酸多态性（SNP）。人们总是期望反应体积能尽可能地小，因为某些试剂还要向知识产权持有者-霍夫曼·罗氏公司交纳专利转让使用费，而且引物/探针和 DNA 样品可能很稀有或者昂贵。近年来热循环仪、读板机和微孔板的发展使分析能在 384 孔 PCR 板中进行，反应体积只需要 5-10ul。

mosquito 液体操作系统提供了基于一次性加样针头的灵活、准确的移液操作，体积可低至 50nL。这篇研究表明 mosquito 能将 SNP 基因分型的 384 孔板 PCR 反应体积降至 2ul 以下，带来可观的试剂节约和通量增加。

简介：SNP 基因分型

SNP 是指在一个群体中，某个碱基存在两种形式（等位基因）；例如 SNP 可能是 C（胞嘧啶）和 T（胸腺嘧啶）等位基因。在人类基因组中每 1000 个碱基对可能出现 1 个 SNP，人们努力去发现和鉴定这些 SNP，以作为发现和诊断疾病基因的工具。

5'核酸酶分析（也就是大家所熟悉的 TaqMan 分析）能根据特异探针的杂交及 Taq DNA 聚合酶特有的 5'-3'核酸外切酶活性，使得每个等位基因释放出不同荧光标记，从而得以分辨 SNP 等位基因。

通过侧翼引物进行的 PCR 在同一个分析中使用了两个荧光寡核苷酸探针。专一设计的探针特异性针对包含 SNP 的区域，探针包括 5'端荧光报告基团和 3' 端的淬灭基团，如果杂交发生，5'核酸酶活性就会切割探针，从荧光淬灭基团中释放出荧光报告基团。带有不同荧光报告染料的两种不同探针，加入反应中用于分辨等位基因，每一种染料对应一个需要被分型的等位基因变异。

如果探针与靶 DNA 序列间存在错配，杂交会显著减少并终止荧光报告染料的切割，因此荧光信号的释放也减少。每个信号的大小显示出哪一种等位基因存在。在 3'端引入两个修饰基团能显著改善探针的灵敏度----非荧光的淬灭基团能降低背景信号，MGB 修饰基团(minor groove binder, 一种 3 肽)能增加反应的灵敏度。



Figure1. Mosquito™ instrument with 5-position plate deck

材料与方法

MRC geneservice (一家英国的科研服务的主要供应商) 用 5 μ L 总体积进行 SNP 基因分型, 这是该类分析的公认小体积。利用 mosquito, 将标准的反应体积 5 μ L 和更小的反应体积 1.7 μ L 的分析性能进行了比较。mosquito 具有纳升移液能力, 能进行更小体积的分析, 之所以选择 1.7 μ L 是确保分析产生的荧光信号能被 ABI 7900 检测到。

5 μ L 分析

一组 DNA 样品排列在 96 孔微孔板中, 每孔约 20 μ L。反应混合液 (包括探针和引物) 在 384 孔板的一列中制备。DNA 样品组分别取 1.5 μ L 转移到 384 孔板中, 与 3.5 μ L 反应混合液混合。分析是在 ABI 384 孔板的偶数行中进行的, 由于列的密度间隔从 9mm 压缩到 4.5mm, 因此只用了第 1-12 列。尽管在这项研究中只测试了一组 96 个 DNA 样本, 但这个设置可以将 4 个 96 孔板的样品加到同一个 384 孔 PCR 板上。

由于 mosquito 主要用于纳升级移液操作, 移液加样针最大体积为 1.2 μ L, 反应混合液的体积通过 3 次移液 (1.2、1.2、1.1 μ L) 来实现, 使用一套 8 个移液加样针头完成所有孔。

同样地, 1.5 μ L DNA 分成两个 750nL 加入, 但这回每次加样使用新的移液加样针头来防止 DNA 样品的污染。对于使用 mosquito 来说这是一个简单步骤, 因为该仪器的核心是一卷 36000 个一次性的微量移液加样针头。为了避免交叉污染, 用过的移液加样针被丢弃掉, 新的移液加样针进入微孔版中取样, 省去了耗时的洗涤循环的步骤。

1.7 μ L 分析

采用与前面实验同样一组 DNA 样品, 同样的方法

分析, 不过反应体积减少了。一次移取 515nL DNA 样本 (每次使用干净的移液加样针) 加入到 1.2 μ L 反应混合液 (用一套 8 个移液加样针先加入到干净的孔中)。这些体积的比例与上面 5 μ L 分析相同, 通过单次转移就能实现。这些分析在上面平板的相同行, 第 13-24 列中进行。

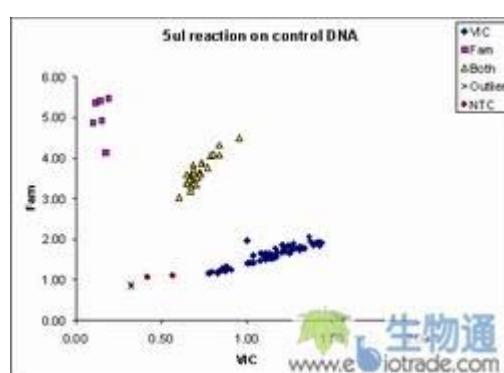
热循环和分析

准备好的 384 孔板用 Abgene 透明封口膜 (强) 热封, 在 ABI 7900HT 中反应和读数。结果根据两个等位基因特异的荧光基团 (VIC 和 Fam) 的强度绘制成图。

图 2 显示了数据点的三个主要簇。右下是 VIC 荧光染料强度与 Fam 荧光染料比较相对较强的数据点, 对应于 DNA 样品中单个 SNP 纯合等位基因。左上较小的数据点簇则与第二个 SNP 纯合等位基因相对应。在这两组数据点组之间, 有第三个簇, 对应两种 SNP 杂合的样品。

4 个数据点位于原点附近。它们对应两个水样品 (无模板对照 NTC) 和两个异常值。异常值在每个实验中对应相同 DNA 样品。这些样品扩增失败, 可能是由于 DNA 质量不好。

通过数据点离散的紧密程度和分散程度可以表明这些数据的质量。在这项研究中, 1.7 μ L 总体积分析具有更好的数据质量, 而信号水平与 5 μ L 分析相似。



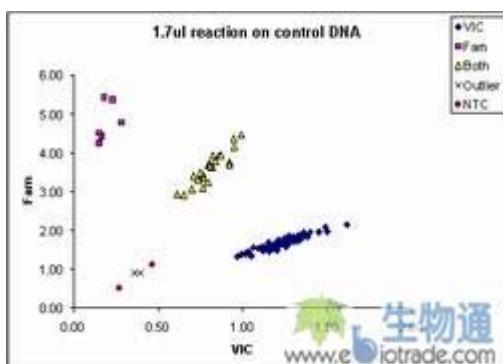


Figure 2. Intensities of VIC and Fam fluorophores for each assay

结论

这项研究表明利用 mosquito 将 PCR SNP 分析的制备和分析降到 1.7uL 的反应体积是可行的。数据质量与 5uL 反应体积相当甚至更高。因此可以通过降低分析使用的试剂量来降低费用。这个发

现为 mosquito 液体处理器能在 SNP 分析中降低超过一半以上的试剂费用提供了证据。

[索取 mosquito 液体操作系统的技术资料！](#)

TTP LabTech Ltd.公司的国内联系方式：

名称: TTP LabTech 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@tpplabtech.com

网址: www.tpplabtech.com.cn

利用两步法小体积移液快速制备梯度稀释的分析即用型微孔板

Joby Jenkins, Rob Lewis, Tristan Cope, Wayne Bowen

TTP LabTech Ltd, Melbourn Science Park, Melbourn, Hertfordshire, SG8 6EE, UK

摘要

绘制待测化合物相对治疗靶点的浓度效应的图谱需要将母液准确稀释。在筛选实验室中，化合物一般是以逐步、连续的方式以恒定的体积将单个母液稀释到微孔板中，最近，一种产生梯度稀释的两步法正变得越来越流行。第一步，制备浓度相差 30-100 倍的多个母液母液；第二步，不同纳升级体积的母液母液转移到第二个分析微孔板上，用于实验并以此生成“分析即用型”量效曲线。

Mosquito® 是一种小体积液体操作仪器，它融合了低成本的一次性加样针头系统和容积式替换移液方法的优势。**Mosquito®**，通过与新近开发的大体积分液器模块联用，完全能够利用完整的移液步骤，在 384 孔板上进行两步法的化合物稀释。或者，**Mosquito®** 也能在第一步制备多个母液，以供利用声学技术的后续稀释。我们展示了这个方法每小时能制备 370 块分析微孔板所生成的每条量效曲线，都包含有 12 个点，跨越 6 个对数单位。

结论

- 单个平台的两步法稀释免去了整合阶段，能快速制备分析即用型微孔板。
- 快速稀释方法避免了梯度稀释中所见的叠加错误。
- 储存在 DMSO 中的母液直接稀释并转移到分析微孔板，稳定了浓度连续下降时化合物的溶解度。

- 通过直接分液到含有细胞的分析即用微孔板，无需中途微孔板的梯度稀释过程，即可生成量效曲线。

- 装有大体积分液器模块的 **mosquito** 产生的分析即用型量效反映微孔板能满足生物化学和细胞筛选的大部分要求。

1 配有大体积分液器模块的 **mosquito** 仪器



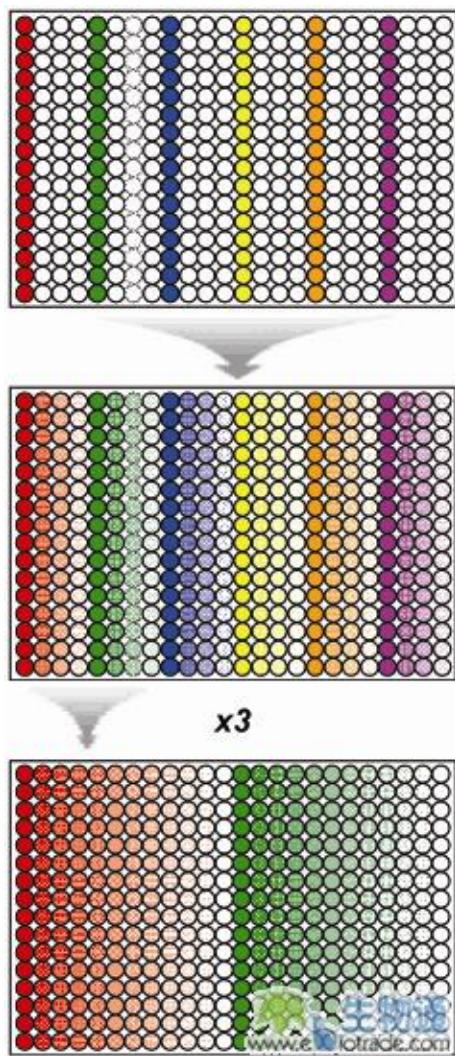
Mosquito® 是一种小体积液体处理仪器，它将低成本的一次性加样针头系统和容积式替换移液方式相结合，来确保零交叉污染。**Mosquito** 能够在 50 nL-1.2 uL 的体积范围内移液，而且没有洗针步骤。

2 生成量效曲线的两步法

第一步- 384 孔源板中 96 种化合物母液母液经过梯度稀释（1.5 对数），形成 4 种母液母液，如 10 mM、0.316 mM、10 uM 和 316 nM。利用大体积分液器模块加入稀释物。

第二步- 从源板中取一定量（500、158 和 50 nL）的母液，在 3 块 384 孔分析即用型量效曲线

微孔板上产生 11 个点、半对数的稀释系列+空白，每块微孔板包含 32 种化合物。



3 第一步 – 逐步稀释的制备



大体积分液器模块显著扩展了 mosquito 的液体处理能力，实现了纳升和微升体积相结合的移液步骤。大体积分液器模块能够进行大体积 ($\geq 10\mu\text{L}$)、非接触式分液，从 8 个独立通道将溶液分配到 mosquito 所承载的微孔板。通过常见且简单的用户界面，可在同一过程中进行低体积和高体

积的分液步骤。两种组件都与水溶剂和 DMSO 溶剂完全兼容。

在逐步稀释时，可利用小体积微量移液器进行母液转移，并用大体积分液器模块进行稀释物添加。此处所描述的方案，384 孔源板中排列的 96 种化合物每个步骤稀释 3 次。

- 取最高母液浓度 (100% DMSO) 的 96 种化合物各 $35\text{ }\mu\text{L}$ ，置于第 1、5、9、13、17 和 21 列。
- 利用 mosquito 转移所有化合物各 1108 nL 至相邻的列。
- 大体积分液器模块向这些列中加入 $34\text{ }\mu\text{L}$ 100% DMSO，并瞬间搅动混匀，从而将化合物稀释 31.6 倍 (1.5 个对数单位)。
- 以上过程重复两次，产生 4 个由 100% DMSO 稀释的母液，作为源板，进行第二步的直接稀释。
- 此过程约需 4 分钟即可完成。

4 第二步 – 生成量效曲线的直接分液方法

- mosquito 分别转移 500 nL 、 158 nL 及 50 nL 最高浓度的化合物母液到 384 孔分析微孔板的第 1 至 3 列。

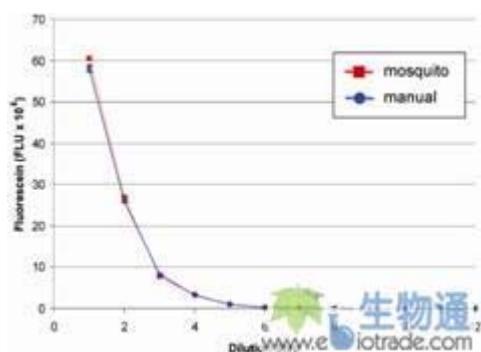
• 其它三种母液也如此操作，产生多达 12 个点、半对数的量效曲线。最后一次稀释可省略，以 DMSO 溶剂空白作为替代，产生 11 个点的量效曲线，几乎跨越 6 个对数单位。

• 分析微孔板上另一边的 16 种化合物也重复此过程。

• 加入 DMSO，让所有孔都补足至 500 nL 100% DMSO。

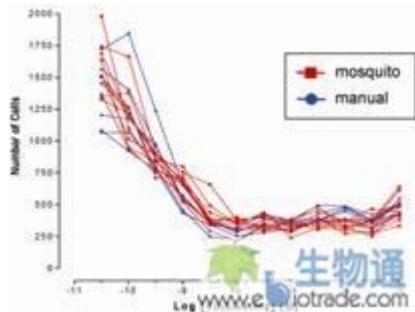
• 此过程约需 3.5 分钟即可完成，重复三次，完成 96 种化合物在 3 块 384 孔分析即用微孔板上的稀释。

5 直接分液稀释方法的准确性



mosquito 直接稀释方法避免了梯度稀释误差的叠加。这能够改善重复性，并显著降低传统自动化梯度稀释的误差，在传统自动化梯度稀释中，混合效率有重大的影响。在测试中，所有柱的变异系数 (CV) 小于 8%。图中展示的数据来自荧光素的稀释。

6 含有活细胞培养物的微孔板的直接分液稀释



在药物筛选中，贴壁细胞的使用越来越流行，常常需要加入待测化合物，而铺板阻碍了分析即用型微孔板的使用。直接分液稀释克服了这个难题，且不需要去除培养基。举个例子，向 384 孔板中加入 HeLa 细胞，过夜保证细胞完全贴壁，后用长春碱 (G2/M 阻断剂) 处理 22 小时。稀释方法：第 1-12 列-mosquito 直接方法；第 13-24 列-手工梯度稀释。为了计数，细胞用乙醇固定，并用碘化丙啶 (10 M) 标记，在 Acumen eX3 微孔板细胞仪 (TTP LabTech) 上分析。μ

[索取 mosquito 液体操作系统的技术资料！](#)

TTP LabTech Ltd.公司的国内联系方式：

名称： TTP LabTech 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@tpplabtech.com

网址: www.tpplabtech.com.cn

让 Invitrogen 伴随您的细胞重编程之路

《Nature Methods》杂志将 2009 年的年度技术 (Method of the Year 2009) 授予了 iPS 技术，理由是其潜力无限。自 2006 年山中伸弥那篇里程碑式的文章甫一发表，整个生物界就为之一振。过去认为多能干细胞只能从人胚胎中获得，而 iPSC 的出现推翻了这一定论。应用人和小鼠的正常皮肤细胞，再加上四种基因，也能让正常体细胞转化成多能干细胞。

这一发现对生命科学领域的影响可谓深远，胚胎干细胞的伦理之争被绕过，疾病治疗和再生医学都可能因此而改变。三年多来，iPS 技术取得了长足的进步，从最初的 4 个转录因子诱导，到单因子诱导、蛋白诱导、甚至小分子化合物诱导，重编程技术正朝着更安全、更高效的方向发展，同时也吸引越来越多的科学家进入这一热门的新领域。

对于重编程这项颇具挑战性的技术而言，每一步都是关键，因此选对产品很重要。在细胞研究方面，Invitrogen 公司无疑是领先的，其技术之领先，产品之丰富，用户之多，让竞争对手望尘莫及。同样，Invitrogen 宽广的技术平台也为 iPSC 研究流程的每一步提供了最佳的工具，从体细胞的分离和扩增，到重编程，再到 iPSC 的验证与分化。

体细胞

体细胞的一致性和存活率，决定了细胞重编程的成功与否。过去的 iPSC 大多源自于成纤维细胞及角质细胞；如今，其它种类的原代细胞及成体干细胞的使用，让研究人员能更深入地探讨细胞重编程事件。Invitrogen 提供多种原代细胞及干细胞，包括新生及成体表皮角质细胞和真皮成纤维细胞，能让您能灵活开展 iPSC 实验。每批细胞都经过存活率及生长潜力的性能测试，质量稳定，是您细胞重编程的最佳选择。

对于 iPSC 研究中的原代细胞扩增，Invitrogen 也提供了丰富的产品，其中多种是不含动物来源成分（如 BPE 或血清）的。譬如其明星产品 -

EpiLife® 培养基就是一种化学成分限定的液体培养基，含有 60 μM CaCl₂，适用于人表皮角化细胞或人角膜上皮细胞的常规培养。它使用起来非常简单，只需添加一次添加剂即可。与其它无血清培养基相比，EpiLife® 培养基能大大延长人表皮角化细胞的体外寿命。

重编程

转录因子可针对人类体细胞进行重编程，使其具备多能性，Oct4、Sox2、c-Myc、Klf4 和 Oct4、Sox2、Nanog、Lin28 任一组转录因子均有此效果。Invitrogen 的 ViraPower™ HiPerform™ iPSC 慢病毒系列产品，可将重编程因子以高效率导入体细胞并大量表达，促使体细胞转变成 iPSC。6 种可供选择的转录因子，再加上 ViraPower™ HiPerform™ 慢病毒颗粒，能将精确的基因拷贝数导入您的目的细胞中。美国波士顿儿童医院的 In-Hyun Park 等曾在《Nature Protocols》上发表将人成纤维细胞重编程为 iPS 细胞的操作步骤，使用的正是此产品¹。

iPSC 的扩增

GIBCO® 的培养基及试剂，一直都站在多能性干细胞研究的最前沿。您可从中灵活地选择培养基系统，在有或无滋养层细胞、有或无动物成分的条件下有效地扩增 iPSC。

对于 iPSC 的培养，传统的选择是 DMEM 培养基搭配胎牛血清，以及滋养层细胞。然而这种培

养费力耗时，同时血清和滋养层细胞的可变性很难将 iPSC 维持在未分化状态。于是，Invitrogen 推出了 KnockOut™ DMEM 及 KnockOut™ 血清替代物，它们是胚胎干细胞培养的最佳产品，也是如今 iPSC 培养的最佳选择。除此之外，StemPro® hESC SFM 可用于不添加滋养层、不添加血清的 iPSC 培养。

培养基中的动物来源成分以及动物来源的滋养层细胞可能会带来病原体的污染，不利于临床应用。而第一款无异源成分的血清替代物—KnockOut™ SR XenoFree 的推出，则为 iPSC 的临床应用铺平道路。它去除了所有的动物蛋白，只含有人源蛋白或人重组蛋白，更适合从科研到临床的转换。它能用于 iPSC 的分离、冻存、拟胚体形成和体外分化研究，维持了 iPS 细胞的多能性和分化潜能。在添加 bFGF 和 KnockOut SR XenoFree GF Cocktail 后，KnockOut DMEM 和 KnockOut SR XenoFree 的组合足以培养 iPSC。

西班牙巴塞罗那再生医学中心的 Ignasi Rodríguez-Pizà 等就证实了这一点²。他们近日在著名的干细胞刊物《Stem Cells》上发表了一篇文章，讲述的是如何在无外源成分的条件下将人成纤维细胞重编程为 iPSC。研究人员以无外源条件下培养的人成纤维细胞作为 iPSC 的来源，之后加入三种重编程因子诱导，产生了 10 个 iPS 细胞系。这些细胞系可在 KnockOut DMEM、Xeno-free KnockOut-SR 及其它无外源成分的条件下传代，其表现出的特征与 hESC 无异，且两个细胞系被诱导分化成有节奏跳动的心肌细胞。这项研究表明 iPSC 也能在严格的无外源条件下产生并维持，为今后的临床治疗打下基础。

鉴定

在 iPSC 产生之后，对其进行验证，以便了解其表观遗传学特征，并确保其多能性和分化潜力，

这是 iPSC 研究中的关键步骤。Invitrogen 的磷酸酶检测试剂盒及细胞表面抗体，可用于细胞的多能性分析；而 StemPro® EZChek™ Human Tri-Lineage Multiplex PCR Kit，可通过 RT-PCR 快速可靠地监控 iPSC 的分化状态，它能同时测定 Oct4（多能标志物）、AFP、ACTC1 和 Sox1（分别为内胚层、中胚层和外胚层的标志物）及 GAPDH（内参）的表达。对于表观遗传学分析，NCode™ 及 MethylCode™ 系列产品则为 miRNA、ncRNA 及 DNA 甲基化图谱分析提供了广泛的工具。

分化

如果你想让 iPSC 定向分化，Invitrogen 则提供了许多高质量的生长因子及细胞因子。这些蛋白均经过多种测试，以确保其具备高生物活性、高纯度、冻融稳定性以及结构均一性。GIBCO 品质保证的生长因子，可提高结果重复性，降低其他蛋白和污染物的干扰。此外，Invitrogen 不断增加的干细胞培养基、添加剂及分化试剂盒等产品，能让 iPSC 有效扩增并分化成特定的细胞谱系。

iPSC 的研究可谓日新月异，每一天都有新成果出炉。为顺应潮流，Invitrogen 在 iPSC 方面的产品也在不断扩展，新品迭出。如果您想了解 iPSC 方面的最新产品或应用文献，请[点击此处索取](#)。（生物通 余亮）

参考文献

1. Park, I.H. et al. Generation of human-induced pluripotent stem cells. Nat. Protoc. 2008 3(7): 1180-1186.
2. Rodríguez-Pizà I, et. Al. Reprogramming of Human Fibroblasts To Induced Pluripotent Stem Cells Under XenoFree Conditions. Stem Cells, 2010 28(1): 36-44.

冷泉港实验方案 3 月刊 聚焦 杆状病毒展示文库

大家对噬菌体展示系统比较熟悉，它能够从复杂的文库中分离出编码不同功能的多个基因。然而，原核细胞存在限制，特别是展示蛋白的折叠和翻译后修饰，因此研究人员迫切希望开发出真核的展示系统。在过去的十年，基于杆状病毒的展示策略-即在病毒表面展示外源肽段或蛋白-逐步建立，并经过体外和体内应用的评估。

杆状病毒表达系统一直以来广泛用于外源蛋白的表达。它的克隆技术简单，病毒产量高，且昆虫细胞的环境提供了真核所需的翻译后修饰。病毒衣壳的表面修饰实现了特异的靶定。这种修饰能增强病毒与多种分裂和非分裂哺乳动物细胞的结合以及进入，并产生展示抗原的抗体。此外，该技术还能修饰细胞内行为，比如重组纳米颗粒的运输，这个特征与定向的基因或蛋白运输高度相关。在这一期的冷泉港实验方案中，Christian Oker-Blom 及其同事详细介绍了杆状病毒展示和基因运输系统。

通过修饰主要的包膜蛋白 gp64，可改变苜蓿银纹夜蛾核多角体病毒 (AcMNPV) 的向性和转导效率。此外，AcMNPV 的主要衣壳蛋白 vp39 提供了兼容的融合伴侣，能在病毒衣壳上展示外源蛋白。这些特征，再加上报告基因如 GFP 位于哺乳动物启动子的转录调控之下，实现了在体外哺乳动物细胞中监控转导效率。杆状病毒展示策略及方法详见下文，目前可免费阅读。

[Creation of Baculovirus Display Libraries](#)

本期冷泉港实验方案中另一篇免费的 protocol 是关于蛋白相互作用的。重组蛋白、抗体、小分子或核酸作为亲和试剂，是一种简单而强大的策略，来研究蛋白与诱饵的相互作用。与 Western blotting 相比，质谱分析扩展了相互作用物的鉴定，能够在复杂的混合物中检测数千种蛋白。然而，灵敏度增加也会带来问题，如何从背景噪音中分辨特异的相互作用。

来自 Broad 研究院的 Shao-En Ong 利用定量蛋白质组学的方法，来实现蛋白/诱饵间特异相互作用的灵敏检测。在定量蛋白质组学中，标有稳定同位素如 ^{13}C 及 ^{15}N 的蛋白的 MS 信号可鉴定出，并相对未标记的蛋白进行定量。比较目的诱饵相对对照诱饵的富集，就能在大量非特异相互作用中实现蛋白/诱饵的特异相互作用的灵敏检测。详见下文：

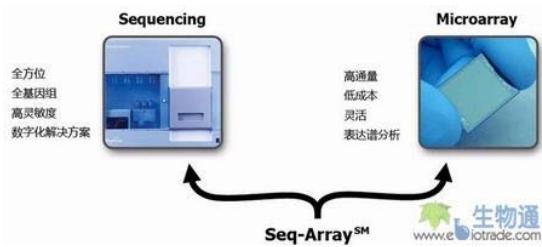
[Unbiased Identification of Protein-Bait Interactions Using Biochemical Enrichment and Quantitative Proteomics](#)

[罗氏通用荧光定量试用装火热申请中](#)

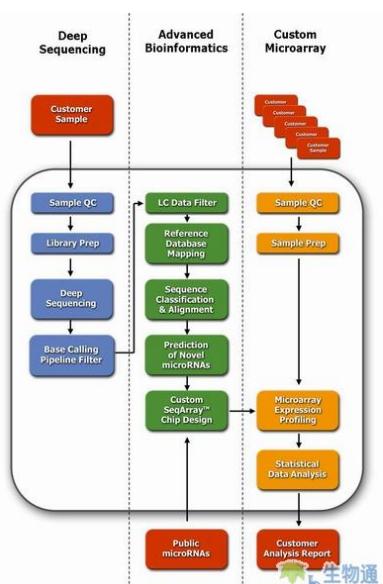
联川生物隆重推介 Seq-Array 服务

深度测序技术 (Deep Sequencing) 是新近出现的一项革命性的测序技术，具有超高数据通量，高覆盖度的特点，可助科研人员快速获取生物样本中从 microRNA (miRNA) 到整个基因组的全部序列信息。miRNA 是真核生物体内一类具有基因表达调控功能的非编码小 RNA。愈来愈多的实验证据表明，miRNA 几乎参与了所有的生理和病理过程，并在其中发挥重要的调控作用。深度测序技术的出现，使科研人员找到了一条快速高效地发现新 miRNA 的途径。然而，由于深度测序相对较高的实验支出和低样品检测通量的限制，科研人员通常无法采用重复测序对测序结果进行验证或是对多组生物学重复样品测序以获取 miRNA 表达差异。微阵列芯片作为一种高效的检测工具，可以快速检测验证完整的测序信息，并能以较低的费用对生物学重复样品进行高灵敏度高特异性的 miRNA 表达谱分析。如果能同时发挥两种技术的优势，无疑将极大的促进 miRNA 领域的研究。

现在 LC Sciences 全球率先推出 Seq-Array 服务。Seq-ArraySM 综合了最新的深度测序技术，领先的生物信息学分析策略和创新的 μParaflo[®] 定制微阵列平台，为您 microRNA 研究提供个性化全方位的技术服务。



Seq-ArraySM 提供了一条从最初广泛探寻 miRNA 到聚焦其生物学功能的高效研究途径。



2010年4月28日第七十六期

- Seq-ArraySM 是深度测序和微阵列技术的完美结合，它将二者的效能最大化，同时克服了它们各自的局限。

- Seq-ArraySM 提供了一条从最初广泛探寻 miRNA 到聚焦其生物学功能的高效研究途径。包括：揭示调控的靶基因，定义基因表达通路，以及发现生物标志物。

- Seq-Array 特别适合用于对大量样品进行的焦点研究。在测序获得完整的序列后，我们可设计相应的微阵列探针序列，并使用定制阵列进行高效的表达谱分析。

- Seq-Array 同时也适合用于发现（测序）和验证（阵列）具有临床意义的生物标志物。

[了解 Seq-Array 服务的详细内容](#)

关于 LC Sciences 与联川生物

LC Sciences (美国) 是一家专业提供基因组及蛋白质组产品与服务的生物技术公司，提供全方位的 DNA, RNA 及多肽微阵列服务，可用于核酸/蛋白表达谱与功能分析，生物标记发现和新药筛选，研发应用于诊断和生物传感的微型实验设备。

基于专利的 μ Paraflo[®]微流体技术，LC Sciences 可提供具有高度灵活性和定制化的创新产品来满足客户快速变化的需求。联川生物作为 LC

Sciences 在中国成立的全资子公司，随时为您提供最新的生物技术服务和前沿信息。

欢迎拨打免费咨询热线：800-857-1452 或登陆 www_lc-bio_com 获取更多信息。

TTP LabTech 成功向阿斯利康 交付一套全自动化学系统

TTP Labtech 公司宣布，它已经顺利完成了阿斯利康的大型实验室自动化项目。该项目的完成花费了三年多的时间，包括一个全自动系统的设计和建造，用于新型化合物的盐和晶型(salt and polymorph)筛选。该系统在 2008 年下半年完成了现场验收测试 (SAT)，之后就运往阿斯利康位于瑞典 södertälje 的科研基地交付使用。

这个合成并分析晶体物质的独特系统是由阿斯利康和 TTP LabTech 共同设计的。总体目标是增加通量，高效可靠地探索实验空间，并自动分析海量数据。该项目分为几个阶段进行，第一个是原型阶段。这个阶段解决了项目早期未知数最多的那些设计元素，将风险最小化。第二个阶段是充分设计并建造单个筛选机器，来展示基本的自动化晶型筛选过程的控制、功能性和一致性。现在，TTP LabTech 被要求复制整套系统，以便让整体通量加倍。

TTP LabTech 的 Philip Blenkinsop 博士认为：“这对 TTP LabTech 而言，是一个非常有挑战性的项目，需要从硬件和软件的角度来开发多个新颖的解决方案。第一个系统的完成是一个真正的里程碑，我们希望在明年能交付下一个系统。”

阿斯利康的项目经理 Matti Ahlqvist 评论道：“与 TTP LabTech 的协作催生了一个杰出的方案。我们设定了很苛刻的要求，但是很高兴几乎所有的功能都已经实现了。目前第一个系统已经投入到我们的药物项目中，我们期望第二个系统能早日到来，以便进一步增加通量。”



[点击索取 TTP LabTech 在高内涵筛选方面的技术资料！](#)

关于阿斯利康

阿斯利康是一家大型的医疗保健企业，从事处方药的研究、开发、制造和销售，并提供医疗保健服务。阿斯利康是全球领先的制药公司之一，销售额达 295.5 亿美元，在消化、心血管、神经科学、呼吸、肿瘤和感染领域处于世界领先地位。阿斯利康被列入道琼斯可持续发展指数（全球）以及显示企业良好社会责任度的富时社会责任指数（FTSE4Good Index）。

如需了解更多信息，请访问：

www.astazeneca.com

关于 TTP LabTech 公司

总部位于英国剑桥附近的 TTP LabTech 公司是一家向全球生命科学界提供开发服务的领先供应商。TTP LabTech 的开发小组将化学、生物学和工程学的技能结合起来，提供了实用且创新的系统、产品及工艺。通过英国、北美以及中国的办事处，公司能够管理并支持世界各地委托公司的定制开发项目。

如需了解更多信息，请访问

www.ttplabtech.com/custom-solutions/index.html

TTP LabTech Ltd.公司的国内联系方式：

名称: TTP LabTech 中国代表处

传真: 021-50793992

地址: 上海市张江高科技园区蔡伦路 780 号

邮箱: china@tpplabtech.com

3 楼 J 座

网址: www.tpplabtech.com.cn

电话: 021-50793390/50793991

QIAGEN 和中国科技大学宣布成立‘凯杰新创基金讲席教授’席位

凯杰和中国科技大学宣布成立“凯杰新创基金讲席教授”席位。签约仪式在中国科技大学举行，中国科技大学校长侯建国教授和凯杰亚太区总裁施晨阳博士主持了该仪式。该资助协议为期 10 年，将在中国科技大学生命科学领域资助一个全职教授席位。

中国科技大学校长、中国科学院院士侯建国教授表示：“我们为凯杰选择在中国科技大学设立资助教席感到荣幸。中国科技大学成立 51 年来，一直以培养中国最好的科学家，使他们有能力从事开创性研究为目标。凯杰的捐赠必将加强我校生命科学领域的研究，还将进一步支持中国本土的世界级科学研究。”

同时，凯杰亚太区总裁施晨阳博士也表示：“我们非常高兴能有机会与中国一流大学合作，共同推进生命科学领域的研究进展。中国科技大学这样顶尖的科研机构在培养新一代的年轻科学家，他们必将给生命科学领域带来新的变革。我们很高兴能有这个机会为这些学生的培养以及中国科研的发展尽一己之力。”

届时将成立一个由生命科学领域的顶尖科学家组成的特别委员会，以执行“凯杰新创基金讲席教授”席位的评审。委员会将考虑国内外所有具备资格的学者及科研人员，整个提名过程预计持续至今夏，入选学者将在今年年底前上任。

关于凯杰亚太区：

凯杰亚太区是公司增长最快的部门。2005 年凯杰开始其在亚洲太平洋地区的战略扩张，目前在中国、韩国、马来西亚、新加坡、印度和澳大利亚开设了 10 个办事处，雇员超过 500 人。加上日本子公司，目前亚太区的业务量约占凯杰整体净销售额的 16%。2006 年，凯杰因在亚太分子检测市场

中的战略举措而赢得了 Frost & Sullivan 颁发的竞争战略领导奖。

关于凯杰：

凯杰 N.V. 是一家荷兰控股公司，是全球领先的样品制备和检测技术供应商。样品制备技术用于从血液或组织等生物样品中分离和制备 DNA、RNA 以及蛋白。检测技术用于鉴别这些分离所得的生物分子。凯杰已经开发并推出了 500 多种样品制备和检测产品以及相关的自动化解决方案。公司客户遍布分子诊断实验室、学术研究机构、制药及生物技术公司和应用检测客户，产品用于法医样本鉴定、动物或食品检验以及和制药过程控制。凯杰的检测技术包括全球现有的应用最广泛的分子诊断平台，该平台包括 digene HPV 检测，它被视为检测引发子宫颈癌的元凶 -- 高危型人乳头状瘤病毒 (HPV) 的“金标准”，同时还包括一整套传染病检测和诊断的解决方案。凯杰在全球 30 多个地方拥有 3500 多名员工。更多关于凯杰的信息，请访问 <http://www.qiagen.com/>。

关于中国科技大学：

中国科技大学是世界闻名的国家重点科技大学，1958 年由中国科学院创立，拥有 32 名中国科学院和中国工程院院士及 9 名第三世界科学院院士。中国科技大学以富有创新精神闻名，该校 1978 年创办首个少年班，成为中国高校超常教育的奇葩。中国科技大学办学 51 年来取得卓越成果，被

公认为是中国大陆基础科研实力最强的大学之一，中国科技大学是 2003 年以来连续 7 年有成果入选年度中国十大科技进展的唯一高校。仅以 2009 年为例，两项研究成果入选中国高等学校十大科技进展、两项成果入选中国十大科技进展，入选数均居中国高校之首。

本发布新闻中的非历史事件属于前瞻性声明，包括对我们的产品、市场、策略以及运营结果等的声明。此类声明基于对风险、不确定因素等的估计，这些因素包括：公司发展与国际运营管理（包括汇

率波动和物流），运营结果的不确定性，市场的业务发展（包括行业应用、临床和学术研究、蛋白质组学、妇女健康/HPV 检测和分子诊断），我们与客户、供应商和战略伙伴的关系，竞争，技术发展，需求变化，法律法规，确定、开发和生产有别于竞争对手的整合产品，产品的市场接受度以及已有技术和业务的整合。更多的信息，请参照我们和 SEC 的文件，包括最新的 20-F 表格。此新闻稿中的信息仅是发稿当时的信息，除非有法律要求，我们不为这些信息的更新承担责任。

Fisher Scientific 全面销售 Acros Organics 和 Maybridge 的产品

Acros Organics 和 Maybridge - 有机化学和药物化学的领导品牌

Fisher Scientific 加入全球科学服务行业已有一个多世纪，作为实验室供应商优选的合作伙伴，其专业团队为全球 150 个国家的 35 万客户的实验室，研究，安全需求度身打造全方位解决方案。

为了更好地为中国用户提供一站式服务和系统解决方案，公司非常高兴地宣布自 2010 年 3 月 15 日起 Fisher Scientific 在中国大陆、香港、澳门地区销售 Acros Organics

<<http://www.acros.com/>> 和 Maybridge <<http://www.maybridge.com/default.aspx>> 产品。同时，百灵威化学技术有限公司将继续作为我们的战略合作伙伴提供 AcrosOrganics 和 Maybridge 的产品和服务。

Acros Organics <<http://www.acros.com/>> 作为 Thermo Fisher Scientific <<http://www.thermo.com.cn>> 集团的一员，专注于以优质的服务，专业的研发生产和技术合作能力，为全球的化学家提供四万多种有机化学试剂和新特试剂及中间体的委托合成服务，满足有机、医药、分析和生化领域客户不断发展的研发和生产需求。

Maybridge

<<http://www.maybridge.com/default.aspx>> 是 Thermo Fisher Scientific 集团下专为药物研发和生物技术提供相关产品和服务的品牌，一直致力于为客户设计和提供创新性杂环中间体，医药化学服务和筛选化合物库以帮助客户发现和设计新的有价值的药物分子，助力药物发现工作。

发布最终解释权归 Thermo Fisher Scientific 所有。

飞世尔实验器材（上海）有限公司

2010 年 3 月 15 日

[索取 Acros Organics 和 Maybridge 的产品目录！](#)