

# EBIOTECH

生物通技术周刊

第79期

2010年9月2日

全文下载

## 【技术前沿】

全基因组测序与转录组测序大比拼  
人工培养组织的新方法问世  
新型双色的光激活荧光蛋白  
MIT化学家设计出荧光标记蛋白的新方法

## 【新品速递】

全新的MagNA Pure 96 DNA和病毒核酸试剂盒  
让多重基因定量不再受约束——RealTime ready自由定制您的 qPCR 检测方法  
安捷伦科技公司最新推出百万特征序列格式的基因表达微阵列芯片  
低碳绿色实验室的好帮手：美国Biomatrix核酸稳定剂系列产品  
赛默飞世尔科技推出全自动代谢物筛查软件MetQuest  
沃特世推出全球第一款生物相容性UPLC系统  
RNAGEM核酸快速提取试剂盒：简单，快速，低成本，绿色环保

## 【应用指南】

设计一个成功的IHC/ICC实验（FAQ）  
原位微量PicoGreen法定量DNA浓度  
6月冷泉港实验方案发布RNA基本操作

## 【行业动态】

Illumina的BeadXpress多重分析系统喜获FDA 510(k)许可  
罗氏和IBM欲共同开发纳米孔测序技术  
赛默飞世尔为人类蛋白质组Atlas供应肽段

# 全基因组测序与转录组测序大比拼

过去，人类常见病的研究主要是利用全基因组关联研究（GWAS）来筛查共有的变异体。近年来，测序技术的蓬勃开展以及个性化医疗的目标让科学家们从共性转移到个性，努力发现稀有的变异体。

尽管新一代测序平台的出现让测序费用迅速下降，然而每个碱基的费用仍然阻碍了更多完整测序的基因组出现。除了经济上的限制，人们还普遍意识到很难从如此多的变异体中鉴定出真正起作用的位点。基于这些原因，研究人员通常一开始就关注编码区的变异体。这也就催生了外显子捕获技术。罗氏 NimbleGen 于去年初最先推出了外显子捕获芯片，从基因组 DNA 中抓出外显子部分，然后测序。这一步也是价格不菲，于是人们退一步，以转录组测序（RNA-Seq）作为替代。尽管这种方法无疑将错过一些低表达基因，但它的优势是产生了更多的信息，比如基因表达水平和剪接模式。

这些方法究竟孰优孰劣？美国杜克大学医学院人类基因组变异中心以及国家癌症研究所的研究人员将高覆盖度全基因组测序和 RNA-Seq 所鉴定出的变异体进行了比较，来系统研究 RNA-Seq 在鉴定人类编码变异体方面究竟效果如何。这个研究结果发表在 5 月 28 日的《Genome Biology》上。

研究人员从同一个个体的外周血单核细胞（PBMC）中提取出 DNA 和 RNA，并利用 Illumina 的 [Genome Analyzer II 测序仪](#) 对 cDNA 和 gDNA 分别测序。gDNA 的测序产生了 14.5 亿个读数，每个读长 75 bp。cDNA 的测序产生了 2.8 亿个读数，一半读长 75 bp，一半读长 68 bp。

之后，研究人员利用 SAMtools 来检出两个序列中的单核苷酸变异体（SNV）。插入缺失和大的

结构变异体不包括在内。在 gDNA 中，SAMtools 检出了外显子中的 51,055 个 SNV，在 cDNA 中则检出了 64,128 个。其中，gDNA 的 48,740 个和 cDNA 中的 40,605 个通过了质量控制过滤。

他们还直接评估了 RNA-Seq 在鉴定变异体上的灵敏度和特异性，并评估了覆盖度和基因的表达水平这些关键因素如何相互作用，影响表现。研究人员发现，在全基因组测序中所鉴定出的外显子变异体中，只有 40% 被 RNA-Seq 所捕获，然而，若只集中在 PBMC 表达的基因，这个数字就上升到 81%。研究人员还发现，在处理 RNA-Seq 数据时，假阳性率高可能是个问题，特别是当覆盖度水平高时。

作者认为，只要有高表达基因的组织来源，并执行了适当的质量控制筛选，在发现高水平表达基因的编码变异体时，RNA-Seq 是一种快速廉价的替代方法。（生物通 余亮）

原文检索：

Screening the human exome: a comparison of whole genome and whole transcriptome sequencing

Genome Biology 2010, 11:R57  
doi:10.1186/gb-2010-11-5-r57

# 人工培养组织的新方法问世

生物通报道，来自哈佛医学院附属的布里格姆妇女医院（Brigham and Women's Hospital）的研究人员开发出一种细胞培养技术，能够以精确的微结构模式组装细胞。这种在培养中控制组织的微结构的能力代表了向临床组织改造又迈进了一步。

哈佛医学院生物医学工程中心的助理教授 Ali Khademhosseini 领导了此项研究。他们综合了过去开发的微凝胶（microgel）技术以及亲水的自我组装。此研究发表在工程技术行业的顶级杂志《Small》上。

水凝胶技术曾用于复杂的 2-D 组织结构的自我组装。自我组装这种方法也能形成 3-D 组织，但细胞在生长时很难与其它细胞结合，这就限制了这种方法的成功。新方法利用了空气-水的界面，并增加了一个紫外光照射步骤，克服了这一点。这种界面利用表面张力让细胞自我组装，并控制它们的微结构。Khademhosseini 认为，这个驱动组装过程的力量与过去开发的不同，且更容易控制。

新技术使用疏水的聚乙二醇（PEG）微凝胶构建特定的几何形状，并在其表面放置全氟萘烷（PFDC）溶液。由于 PEG 是疏水的，而 PFDC 密度比水大，所以 PEG 微凝胶漂浮在溶液表面上。随后的表面张力推动载满细胞的微凝胶相互靠近，细胞开始聚集成二维结构。

如果只是靠表面张力绑定水凝胶，那当然是不够的，于是研究人员又增加了一个交联步骤来稳定

细胞。这一步包括将凝胶暴露在紫外光下，紫外光会促使凝胶形成组织片，其中包含了多个正方形、三角形和六边形等几何形状的亚单位。

产生的组织结构是临床上相关的长度，暗示它们有望用于组织修复和再生。而且，由于这些培养物是微米规模的，Khademhosseini 认为这是向培养有生存能力的组织迈进了重要一步。

Khademhosseini 表示，通过利用锁和钥匙的组件来指导共培养组织的组装，此方法能提供更佳的控制。今后，他们将扩展这种定向组装方法，包含不同的细胞类型、形状和模式。如果这一切都能实现的话，那么距离有功能的供体器官培养也就不大远了。（生物通 余亮）

原文检索：

**Interface-directed self-assembly of cell-laden microgels**

small 2010, 6, No. 8, 937-944

[免费申请Invitrogen的转染产品试用](#)（有效期至 6 月 30 日）

# 新型双色的光激活荧光蛋白

荧光蛋白这两年红得发紫，尤其是在摘得诺贝尔奖之后。更多的荧光蛋白涌现出来，包括最近的所谓第二代荧光蛋白——fluorescent highlighter proteins (FHP)。这些荧光蛋白在适当的刺激下会经历结构的改变，从而打开荧光这个开关，或者荧光发射波长改变。与第一代荧光蛋白相比，它们的优势在于能脉冲标记细胞或分子亚群，从而实现复杂的动力学时空分析。

目前的光激活荧光蛋白有 PAGFP、光激活的 mRFP1、KFP1、Dronpa 等，但其中一些蛋白光转换效率不高，亮度较低，会迅速淬灭，或者需要多聚化。此外，光转换通常伴随着第一种颜色的丧失，这样不得不借助计算机方法来查看整个群体。

基于这些原因，来自英国爱丁堡大学爱丁堡癌症研究中心的 Arkadiusz Welman 及其同事发明了一种新工具——光激活的绿樱桃 (photoactivatable Green Cherry, G<sup>PA</sup>C)。这是一个融合蛋白，它融合了红色荧光蛋白 (RFP) 单体 Cherry 和 GFP 的光激活变异体。这种融合蛋白能够在表达标志物的细胞中持续发出红色荧光，而绿色荧光只有在 405-nm 光激发下才会发出。文章发表在《生物化学杂志》(JBC) 上。

表达 G<sup>PA</sup>C 的细胞在光激活前后都表现出强的红色信号，而绿色荧光只持续数小时。研究人员还进行了一些标签蛋白的测试。他们将融合蛋白放置在 G<sup>PA</sup>C 的 N 端或 C 端，发现均不影响其活性，也不会显著影响胞内蛋白的定位或功能。即便融合伴侣需要大量的翻译后加工和修饰，G<sup>PA</sup>C 仍可容忍。

作者认为，G<sup>PA</sup>C 能够应用在培养细胞的细胞骨架动力学研究，以及果蝇的免疫细胞活体迁移研究。G<sup>PA</sup>C 对于活体研究来说特别有优势，它既不依赖青色荧光，也不依靠荧光共振能量转移 (FRET)，这两者仅限于有限的组织。

然而，G<sup>PA</sup>C 也并非完美。它的美中不足之处在于荧光标签相对较大，超过了 50 kDa，这样，与 G<sup>PA</sup>C 融合的蛋白在用于功能研究前就必须进行仔细的验证。尽管如此，G<sup>PA</sup>C 提供了一种便利的方法来追踪细胞或细胞器 (通过红色荧光)，同时在时空动力学监测中突出了光转换的部分 (绿色荧光)。(生物通 余亮)

原文检索:

**Two-color Photoactivatable Probe for Selective Tracking of Proteins and Cells**

**J. Biol. Chem. 285(15):11607-11616.**

[了解 Clontech 绚丽多彩的荧光蛋白](#)

# MIT 化学家设计出荧光标记蛋白的新方法

继续昨天的荧光蛋白话题。生物通昨天报道了一种[新型的双色光激活荧光蛋白](#)，这种融合蛋白能够在表达标志物的细胞中持续发出红色荧光，而绿色荧光只有在 405-nm 光激发下才会发出。尽管它能够实现复杂的动力学时空分析，但它也有个缺点：蛋白过大。实验中常用的 GFP 同样有这个缺点。一旦荧光探针过大，它们就有可能干扰蛋白的正常功能，或妨碍它们到达目的地。

一直以来，科学家们也在尝试寻找一种更佳的方法来标记蛋白。如今，麻省理工学院（MIT）的化学系的助理教授 Alice Ting 及其同事提出了一种新方法，来克服传统荧光蛋白的缺陷，他们给蛋白标上更小的探针。此探针允许蛋白执行正常的功能，为科学家提供机会去了解以前未曾见过的活性。此项新技术名为 PRIME（酶介导的探针掺入），发表在本周的《PNAS》上。

自 1962 年从水母中分离出来，GFP 已经成为现代生物科学最重要的工具之一。科学家将 GFP 与目的基因融合，追踪了过去看不见的蛋白，了解了细胞分裂和代谢等过程。然而，238 个氨基酸的 GFP 却干扰了一些蛋白的功能，比如肌动蛋白 actin。此蛋白参与了细胞分裂、运动及通讯。然而研究人员发现，与 GFP 的融合对肌动蛋白的功能和运输有着不利影响。

为了克服这些缺陷，Ting 及她的学生使用了一种比 GFP 小得多的蓝色荧光探针。与 GFP 不同的是，新探针一开始并不与目的蛋白相连。它是在后来通过一种全新的酶而附在蛋白上。

这种全新的酶被称为荧光基团连接酶。研究人员在导入目的基因的同时也将编码这种酶的基因导入细胞。他们还在目的基因上加上了一个短的标

签（13 个氨基酸），此标签让连接酶识别蛋白。当 7-香豆素这种蓝色荧光探针进入细胞后，连接酶将它与目的蛋白上的短标签相连。

使用这种方法后，标有荧光探针的肌动蛋白能在细胞中自由游走，并穿过细胞核。

研究人员还展示了此方法能应用与细胞内特定区域的蛋白，比如细胞核、细胞膜或细胞溶质。在连接酶上加入一段信号肽，指导它到达特定区域。之后，酶将荧光探针与此区域的蛋白相连。

MIT 的研究小组目前正在研究这种酶是否能够作用于其它类型的探针。Ting 正在申请此项技术的专利，并计划将其商业化，从而在更大范围内推广。（生物通 余亮）

原文检索：

"A fluorophore ligase for site-specific protein labeling inside living cells." Chayasith Uttamapinant, Katharine A. White, Hemanta Baruah, Samuel Thompson, Marta Fernández-Suárez, Sujiet Puthenveetil, and Alice Y. Tin. Proceedings of the National Academy of Sciences.

[了解Clontech绚丽多彩的荧光蛋白](#)

# 全新的 MagNA Pure 96 DNA 和 病毒核酸试剂盒

Michael Kirchgesser\*, Agnes Aschenbrenner, Irene Huber, Sarah Müller, Heike Girgnhuber, Hubert Schuldlos, Anna Werner, Werner Malmberg, Robert Steiner, Martin Victor, Thomas Kirschbaum, Claudia Kappelsberger, Michael Knoll, and Peter Wenzig

德国匹茨堡，罗氏应用科学部

\*通讯作者：

[michael.kirchgesser@roche.com](mailto:michael.kirchgesser@roche.com)

## 前言

MagNA Pure 96 是最近进入市场的一种全新仪器：它是一种全自动、超高速的系统，它能用于将高质量核酸从各种样品类型中高速分离，1 小时以内即可完成多至 96 个样本的自动纯化，处理的样品容量最高达到 1 ml。该系统采用装有预装式即用型试剂的优化试剂盒，并配有相应的自动分离方法。这种试剂盒的配置基于沿用已久的磁珠技术，后者成功用于不同的 MagNA Pure 系统已有多年。MagNA Pure 96 试剂盒由配有不同预装式密封缓冲液容器的试剂盘和含磁粉的专用瓶组成。

可提供的所有试剂盒都有小容量 (SV) 和大容量 (LV) 的不同规格，可根据要处理的样品量决定。本文描述了 2 种 MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸试剂盒及其方法的特征和性能。

## 材料和方法

新的试剂盒及方法是用人 EDTA 血浆、枸橼酸盐血浆、血清和全血以及培养细胞 (K562 和 HeLa) 作为样品材料开发和测试的。

全血不需要经过预处理即可用于基因组 DNA 分离。培养细胞小球在使用前要悬浮于 PBS 中。

在病毒核酸分离时，使用前在样品中添加不同量的 DNA 病毒 (巨细胞病毒、EB 病毒、细小病毒 B19) 和 RNA 病毒 (甲型肝炎病毒、甲型 H1N1 流感病毒)。然后用移液管将样品移入 MagNA Pure 96 仪器上的 MagNA Pure 96 处理盒中。所有样品至少以 8 倍复制进行试验。根据实验需要，纯化核酸的洗脱体积被设定为 50 $\mu$ l、100 $\mu$ l 或 200 $\mu$ l。在 LightCycler® 480 仪器上采用吸光度 (OD) 测定、琼脂糖凝胶电泳和/或参数特定的定量实时 PCR 和 RT-PCR 分析对洗脱液进行分析。采用 15 $\mu$ l 各自混合母液和 5 $\mu$ l 各自洗脱液建立扩增反应，运行 45 个循环。

## 结果和讨论

### 一般特征

试剂盒的组成：排列在试剂盘中的预装式试剂容器，便于加载；分开放置、含磁珠 (MGP) 悬液的瓶子 (图 1)。试剂盘和瓶子都在运行前放入仪器抽屉中各自的位置。使用后容器可以方便地重新密封，并保存以待必要时进行后续的运行。MGP 瓶具有特殊的瓶盖，可以在仪器的针穿过后自动重新密封。所有组件在室温下都能保持稳定。

MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸小容量规格用于从 200 $\mu$ l 全血，或从  $5 \times 10^5$  个培养细胞中分离基因组 DNA。它还可以从 200 $\mu$ l 血浆、血清或全血中分离病毒 DNA 或 RNA。试剂盒包括 3 个预

装式试剂容器，每个容器最多可进行 192 次反应（即每个试剂盒进行 576 次纯化）。



图 1：试剂盒组件。

试剂盒、试剂盘、磁珠瓶。

MagNA Pure 96 DNA和病毒核酸试剂盒大容量规格用于从 500µl 或 1000µl 全血或从 10<sup>6</sup> 个培养细胞中分离基因组DNA。它能从 500µl 血浆、血清或全血，或从 1000µl 血浆或血清中分离病毒 DNA 或 RNA。试剂盒包括 3 个预装式试剂容器，每个容器最多可进行 96 次反应（500µl）或 48 次反应（1000µl）（即每个试剂盒分别进行 288 或 144 次纯化）。

[点击索取 MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸试剂盒的更多资料](#)

如果需要的话，试剂盒可用于不同的优化方法，包括外部溶解方法可供选用，从而允许在 MagNA Pure 96 仪器外进行病毒灭活。对于所有方法，核酸从不同容量的样品中都可以方便地洗脱，样品的不同容量可以由用户选择。

基因组 DNA

基因组 DNA 的分离及其后续分析显示可重复性、产量、完整度和纯度都很高。根据琼脂糖凝胶分析，DNA 片段平均显著大于 20 kb（图 2）。

表 1 总结了典型的 DNA 产率和纯度。请注意产率显著依赖于血细胞数，因此变化可能达到 2 倍。

样品类型	样品量	DNA 产量 (µg)	DNA 纯度 (OD260/280)	试剂盒类型
血	200 µl	6.6 µg	1.9	SV
血	500 µl	16.5 µg	2.0	LV
培养细胞	5 x 10 <sup>5</sup>	10.4 µg	2.0	SV
培养细胞	1 x 10 <sup>6</sup>	22.0 µg	2.0	LV

如 LightCycler® 480 仪器中进行的 PCR 之前的稀释实验所示（数据未显示），DNA 也被证明不含 PCR 抑制剂。

用不同量的血液与样品检测了该程序的定量性。结果见图 3。

病毒核酸

线性范围

达到了纯化病毒 DNA 和 RNA 的高产率。从较宽的浓度范围分离病毒核酸是可能的（图 4）。

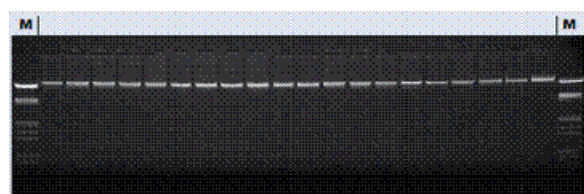


图 2：对血液中分离的 DNA 的琼脂糖凝胶（显示 20 个复本）。在 21 kb 位置的 DNA 带显示了分离 DNA 的高完整性。（M=分子量标记 III）

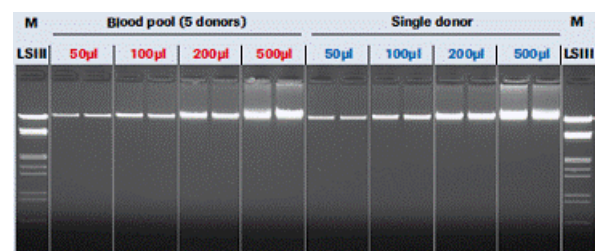


图 3: 可量测性。从不同量血液中分离的 DNA 的琼脂糖凝胶分析显示纯化法的可量测性良好。

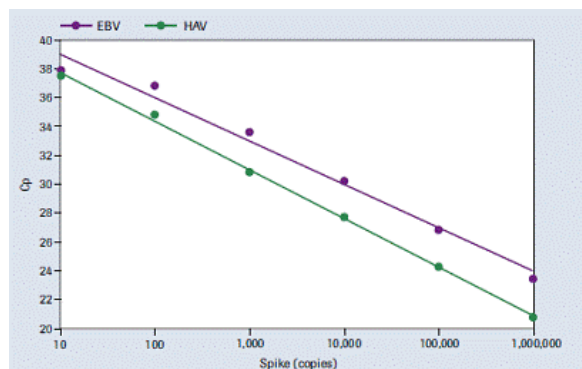


图 4: 线性范围。每份样品中加样浓度为 10-106 拷贝的 Epstein-Barr 病毒 (EBV) DNA 和甲型肝炎病毒 RNA 的分离。

#### 内部质控和可重复性

MagNA Pure 96 系统能在每次分离反应中都包括一次内部质控 (IC)。IC 从机载 IC 管中自动移入每个孔中的溶解缓冲液中。在一次纯化操作的所有 96 个孔中, 采用稀释的细小病毒 B19 质粒作为 IC, 阴性血清作为样品材料来检查该功能。IC 的分离具有很高的可重复性 (图 5)。

#### 交叉污染试验

进行这些试验是为了考查 MagNA Pure 96 仪器上可能孔间污染的程度。细小病毒 B19 被选作这些试验的敏感参数; 检测极限大约为每次 PCR 2.5 个拷贝。然后以  $5 \times 10^7$  拷贝/ml (=检测极限以上 106 倍) 向血浆加样, 用大容量方法 (500 $\mu$ l 样品) 和 50 $\mu$ l 洗脱体积在 MagNA Pure 96 仪器处理。

进行 3 次“棋盘式”运行 (每次有 48 份阳性加样血浆样品和 48 份阴性未加样血浆样品排列成棋盘状)。在 LightCycler® 480 仪器上对洗脱液进行分析。在这些条件下未发现交叉污染 (图 6)。

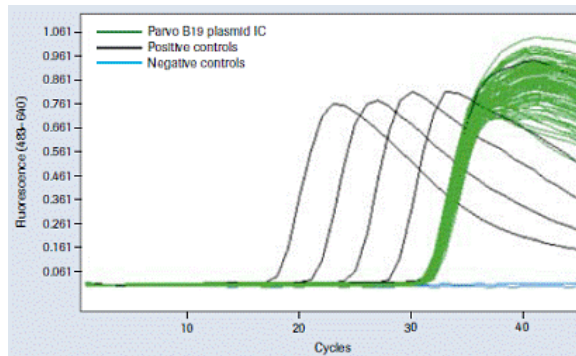


图 5: 内部质控品。从所处理样品盒的所有 96 个孔中分离出的细小病毒 B19 内部质控品的 PCR 分析。

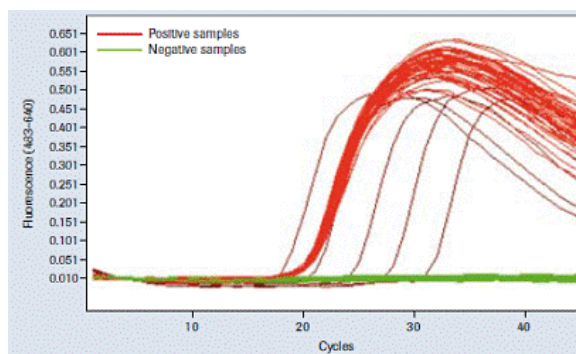


图 6: 交叉污染试验。48 份阳性和 48 份阴性样品排列成棋盘状, 经过处理, 进行交叉污染分析。所有阴性样品鉴定结果均为“阴性”, 而所有阳性样品和所有质控品都显示了预期的信号。该试验重复了 3 次, 均得到相同的结果。

#### “血浆用”和“通用”方法

在方法优化期间发现, 有些样品材料 (即: 血清、全血和枸橼酸盐血浆) 在与“标准”材料 EDTA 血浆不同的工作流程下能得到更好的结果。因此, 在“血浆用操作方法”之外, 还提供另一种“通用操作方法”, 后者能使这些样品类型得到更好的结果 (达到 5 个交叉阈值)。选用“通用操作方法”这个名称是因为这些方法对于血清、全血和枸橼酸盐血浆, 优于“血浆用操作方法”; 而对于 EDTA 血浆, 至少对所检测的病毒 (甲型肝炎病毒、甲型 H1N1 流感、EB 病毒、巨细胞病毒) 是与“血浆用操作方法”相等的。由于结果可能随个别实验设备和所检测参数的不同而变化, 因此在仪器的方法菜单中提

供不同的方法供选择，使用户能选择对实际应用的  
最佳解决方案。

[免费申请罗氏的《实时定量PCR技术原理概要》](#)

### 结论

新的 MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸试剂盒能从多种样品材料中全自动高效分离 DNA 和病毒核酸，具有高速和高产率。用户可以根据特殊需要在几个不同方法间作出选择。此外，该试剂盒所能处理的样品容量范围也很大。因此，对于检测工作量大的实验室来说，新的试剂盒将成为有用的工具。

产品	包装大小	编号
<b>MagNA Pure 96 高通量全自动核酸分离纯化系统</b>	仪器、质控品、软件、所有配件	05 195 322 001
<b>MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸小容量试剂盒</b>	3×192 次纯化	05 467 497 001
<b>MagNA Pure 96 DNA 和病毒核酸大容量试剂盒</b>	3×96 次纯化	05 467 454 001
<b>MagNA Pure 96 细胞 RNA 小容量试剂盒</b>	3×192 次纯化	05 467 543 001
<b>MagNA Pure 96 细胞 RNA 大容量试剂盒</b>	3×96 次纯化	05 467 535 001

# 让多重基因定量不再受约束 ——RealTime ready 自由定制您的 qPCR 检测方法

RealTime ready qPCR 分析方法是罗氏诊断公司应用科学部于 2010 年最新推出的即用型 qPCR 定制检测方法，可快速灵敏地一次性定量 6-384 个基因的表达情况。您可于免费的 RealTime ready 在线配置工具上，自由选择人类相关靶基因并进行定制型多孔检测板的配置。除了通过基因名称搜索，您还可以直接从信号通路或功能基因组中直观地选择靶基因，整个定制过程就像您在网上购物一般，随心所欲，简单便捷。

## 检测技术

RealTime ready 检测基于罗氏独有的通用水解探针库 Universal ProbeLibrary (UPL) 技术。UPL 探针是短序列的水解探针，5' 末端标记荧光素(FAM)，3' 末端标记淬灭染料。根据短片段序列在生物基因组中的高重复特性，每个探针可与接近 7000 个转录子结合，每个转录子可被约 16 个不同的 UPL 探针所检测到。因此，仅需要 165 条短的水解探针，即可覆盖约 99% 的人类、小鼠、大鼠、果蝇、拟南芥等常见模式生物的基因组。为保持 qPCR 探针杂交至模板 DNA 上所需的特异性及熔解温度，特有的 Locked Nucleic Acids (LNA) 结构被整合入每条 UPL 探针序列中 (图 3)。因此，标准 PCR 条件下，高度特异性的 RealTime ready 检测可用于所有实时荧光 PCR 系统中。

## RealTime ready qPCR 分析方法

每种 RealTime ready qPCR 分析方法均含有对应于您的靶基因的特异性引物及 UPL 水解探针。每种分析方法在设计后都使用通用生物学样品材料，以标准 PCR 条件在 LightCycler® 480 上进行过测试。

每种分析方法都能满足以下严格标准：

线性动态范围至少为 3 个数量级。v

PCR 扩增效率为  $v 2.0 \pm 0.2$ 。

标准曲线 R<sup>2</sup> 值为 0.99 至 v 1.00。

扩增特异性高，凝胶分析中无副产物生成。v

正如所有 UPL 检测，RealTime ready 检测可成功用于所有实时荧光 PCR 仪上。由于仅需加入模板和预混液，RealTime ready 可以大量节省您合成引物和荧光探针所需的时间，并且一次性完成您任意定制的靶基因组合的检测，可以获得大量有特别针对性的实验数据，非常适合用于表达谱芯片的下游验证等中等通量，且具有明确目标性的应用。

免费的在线设计工具

可使用在线的免费软件 Probe Finder 进行 RealTime ready 分析方法设计。有以下三种靶基因的导入方式。

“Search by Keyword”支持通过基因名称、基因标志、公共访问标识、生物学过程、蛋白功能或最多 5 个关键词进行搜索。通过“Batch Upload”功能，可最多进行 384 个不同访问标识的搜索。

“Search by Pathway”从细胞信号通路的直观图示中进行检测目标的选择。

“Search by Focus Panel”从大型基因家族如 GPCR、蛋白激酶，或功能相关群组如转录因子或离子通道等的预选择列表中进行检测目标选择。

凝胶分析中未检测出副产物

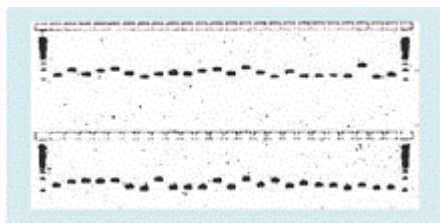


图 1: 应用 RealTime ready 检测 48 个人类 GPCR 家族的基因。

5 个数量级稀释检测扩增线性，显示 PCR 效率为 99.2 至 100 %。

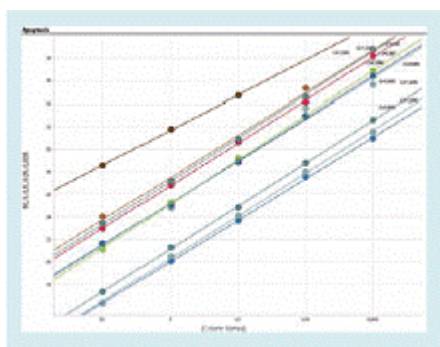


图 2: 对 12 个人凋亡信号通路检测，均进行 5 个数量级稀释并作线性图 (Cp vs 对数浓度)。

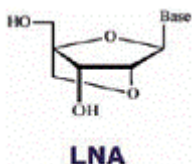


图 3: UPL 探针整合入 LNA 核苷酸。

Locked Nucleic Acids 是一类核苷酸类似物，可增强碱基堆积及骨架重组结构，显著增强核酸分子的热稳定性及双螺旋结构稳定性。

针对 LightCycler® 480 实时荧光 PCR 系统的 RealTime ready 定制型多孔检测板

LightCycler® 480 Multiwell Plates 96 或 384 孔定制型多孔检测板可根据您的需要进行

RealTime ready 方法选定。有大量不同的配置板式 (图 4、5) 可用。96 孔板预置及干燥处理后，支持 PCR 反应容积为 20µl，384 孔板为 10ul；检测时仅需添加 cDNA 与 RealTime ready DNA Probes Master，即可快速获得检测结果，检测结果真实可靠。

每块板最多保留 3 个孔用于您所选定的内参基因检测。而且，大多数板式的布局格式均具有预置的误差检测的设置。

当然，您也可以订购单个基因的分析方法，由罗氏为您设计并合成相应的 RealTime ready Assay。 [点击索取更多资料!](#)

您也可以访问 [www.realtimeready.roche.com](http://www.realtimeready.roche.com)，通过观看简短的视频演示获取详细信息。

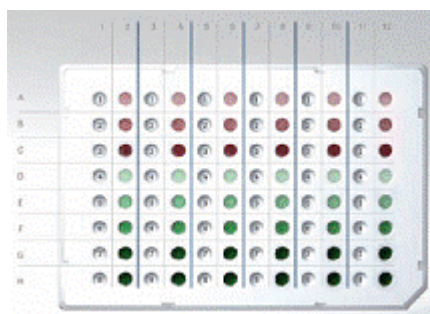


图 4: RealTime ready Custom Panel 96-16+

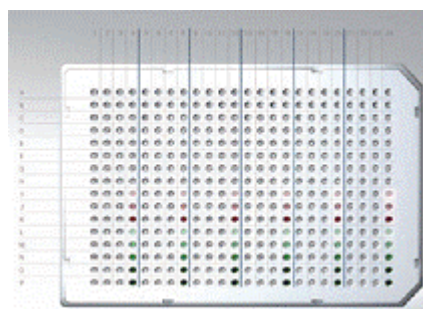


图 5: RealTime ready Custom Panel 384-64+

# 安捷伦科技公司最新推出百万特征序列格式的基因表达微阵列芯片

2010年5月19日，加利福尼亚州圣克拉拉市 — 安捷伦科技公司（纽约证交所：A）今日发布了安捷伦 SurePrint G3 基因表达微阵列芯片，该产品在 1 英寸×3 英寸的单位标准芯片上提供的特征序列可多达一百万种，大幅提高了通量，有效节约了成本，并且具有独一无二的覆盖范围，囊括了编码与非编码 RNA 序列。

这些第三代微阵列芯片产品延续了安捷伦传统以来在检测低表达水平基因方面的高灵敏度和检测结果的高准确度。使用安捷伦最新 SurePrint 技术合成的 60-mer 探针可以确保用户获得高质量的芯片数据。

“G3 格式不仅涵盖了最新的编码 RNA，同时也整合了新的非编码 RNA 内容，”安捷伦基因组学高级市场总监 Chris Grimley 说道，“此外，用户可以在单个芯片上同时运行八组全基因组实验，从而提高了通量，并且节省了在微阵列、试剂和人力等方面的成本。”

安捷伦 G3 基因表达微阵列目录芯片是市场上首款将编码和非编码 RNA 整合在单张芯片上的产品。其靶标包括了最新的 lincRNA（长链基因间非编码 RNA），这是安捷伦与 John Rinn 实验室（隶属于麻省理工学院-哈佛大学博德研究所）合作的成果。高密度的安捷伦 SurePrint G3 基因表达微阵列芯片同时容纳了 lincRNA 探针和 mRNA 探针。

“我们生产微阵列芯片已经很多年了，现在我们终于有机会可以将那些缺少的 lincRNA 包括在内了，”Rinn 说道，“在一张芯片上实现 lincRNA 和蛋白编码基因的同步检测，通过分析二者之间的相互关系，可以帮助我们预测大分子非编码 RNA 可能的生物学功能。”

安捷伦 G3 基因表达微阵列芯片提供目录版和定制版。客户可使用安捷伦特有的 eArray 在线工具设计定制的微阵列芯片。定制方案高度灵活，用户可以选择单片八阵列的芯片格式，在每个阵列上设计六万个探针；或者选择在单张微阵列芯片上设计高达一百万个探针。用户也可以将针对人类和病原体检测的探针放到同一张芯片上，一次进行多个实验，实现高通量和低成本。

8×60K 格式的 G3 基因表达微阵列芯片，当与新型的低上样量快速扩增标记试剂盒配套使用时，上样量可低至 10 纳克，从而在控制单次实验成本的同时，又节省了珍贵的样品。

[点击索取 SurePrint G3 基因表达微阵列芯片的技术资料](#)

关于安捷伦科技公司

安捷伦科技公司（纽约证交所：A）是全球领先的测量公司，是通信、电子、生命科学和化学分析领域的技术领导者。公司的 16,000 名员工在 110 多个国家为客户服务。在 2009 财政年度，安捷伦的业务净收入为 45 亿美元。要了解更多安捷伦科技的信息，请访问：[www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

###

编者注：有关更多安捷伦的技术、企业社会责任和行政新闻，请访问安捷伦新闻站点 [www.agilent.com/go/news](http://www.agilent.com/go/news)。

# 低碳绿色实验室的好帮手:美国 Biomatrica 核酸稳定剂系列产品

低碳是当今社会生活的一大主流,“低碳生活 从我做起”这是每一个地球人都极力推崇和奉行的标语。作为生物学领域的科研工作者,您是否也想到过实验室其实也可以做到低碳绿色呢?



看了上面的对比,是不是觉得不可思议?事实上,核酸常温稳定剂已经悄然进入科研工作者的日常工作中。例如Stanford University, NIH, GSK等单位。北京吉奥生物([www.genoson.com](http://www.genoson.com))和美国Biomatrica公司联合推出的核酸稳定剂系列产品就可以帮您实现。

核酸稳定剂可用于常温保存RNA、DNA、克隆等,操作简单,可100%回收样本,直接用于下游实验。从此与核酸的低温存储及运输说Bye-Bye,不再埋怨冰箱太拥挤,不再担心样本的降解,不再负担低温运输的高成本。

目前,一些生物学材料如核酸、蛋白、细胞、病毒及疫苗等,为了保证其完整性,均是在低温条件下(4°C, -20°C, -80°C 及液氮)存储和运输的。反复的冻融或长时间暴露在逐渐升高的温度环境下,对于极珍贵或不稳定的材料,容易导致降解。为了维持低温环境,通常需要不断地添加能源,但往往并不十分凑效。因此,一些生物样本的保存及运输通常需要作好周密计划,同时也需花费很大的

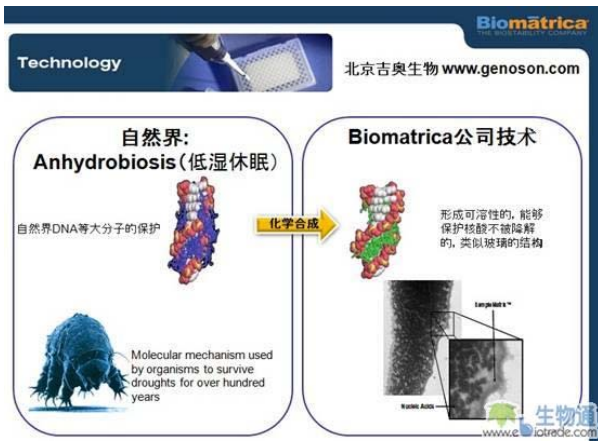
成本。尽管为了保持样本的完整性作了精心的预防工作,但也很难控制环境的变化。

美国Biomatrica为您提供一个全新的选择,从此不再受限于低温处理。我们研发了SampleMatrix®,一项独有的核心技术,能在常温下保护生物学材料不被降解。这项技术源于一种化合嗜极生物,它们能在极端干燥的环境下通过再水合作用,保护其机体长时间存活。基于对这种独特的生物机制的剖析,SampleMatrix®技术被应用于Biomatrica核酸稳定剂产品,用于防止复杂样本及试剂等在运输、存储、处理过程中发生降解,且无需冷藏,不但适用于长期稳定保存样本,并且能快速完整地回收样本。它有助于保持样本的一致性,因此利于科研工作者得到可重复性及可信的实验结果,提高效率,节约时间,大大减少了成本,是以往低温保存样本的理想替代品。这项技术可用于生物技术、诊断、制药工业等成千上万的即用型产物,也可直接用于来自基因组图谱的数十亿样本,以及法律和军事中用于个人药检和刑侦分析的存档样本。

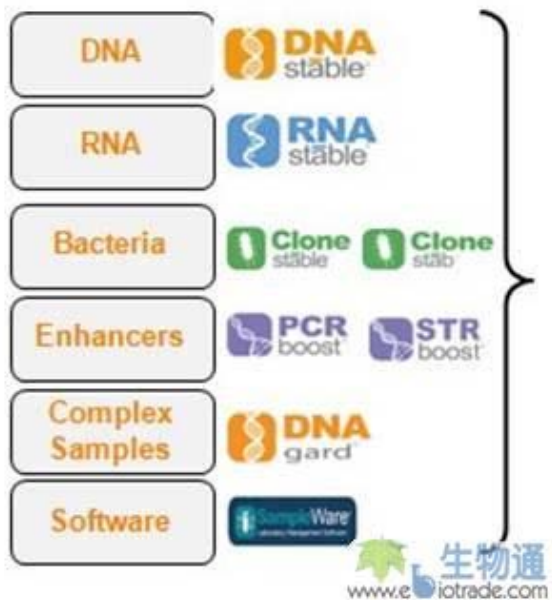
## [申请核酸稳定剂的免费样品](#)

一、核心技术: STABILIZED—从自然生态到科学研究

源于大自然的“无水生命”,如节肢动物及海虾等,耐热的、玻璃一样的外壳,形成保护屏障,保证核酸蛋白等的稳定,防止其降解。



二、稳定剂系列产品：RNA 稳定剂 ,DNA 稳定剂, 未纯化细菌 DNA 克隆稳定剂, 活细菌 DNA 克隆稳定剂, 血液 DNA 稳定剂, 细胞和组织 DNA 稳定剂。另外, QIA safe DNA Blood 为美国 Biomatrixa 公司 OEM 产品。



样本不但处理起来简单, 而且使用时候也方便快捷。



### 三、RNA 稳定剂产品：RNAstable

RNAstable®可以助您将总 RNA、poly(A)RNA 存储于室温长达数月。当您需要使用的时候, 可以

在 10 分钟甚至更短的时间内 100%回收 RNA 样本, 并直接用于下游实验。

相对于传统低温存储的方法, RNAstable 节约时间, 降低能耗及成本。

保护 RNA 样本的完整性λ

快速——准备时间所需不到 2 分钟λ

迅速且完整地回收样本——只需加水即可λ

从 RNAstable 回收到的样本直接用于下游实验, 无需纯化:

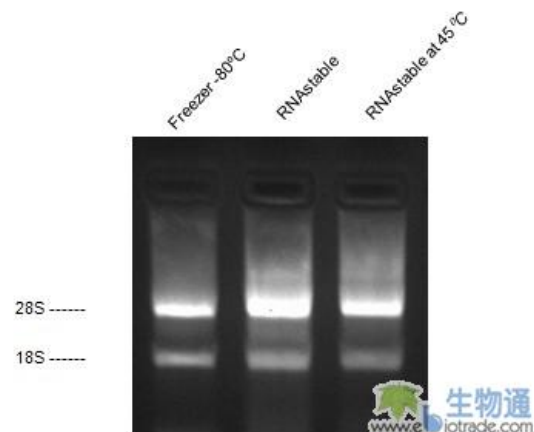
定量 RT-PCRλ

生物芯片分析λ

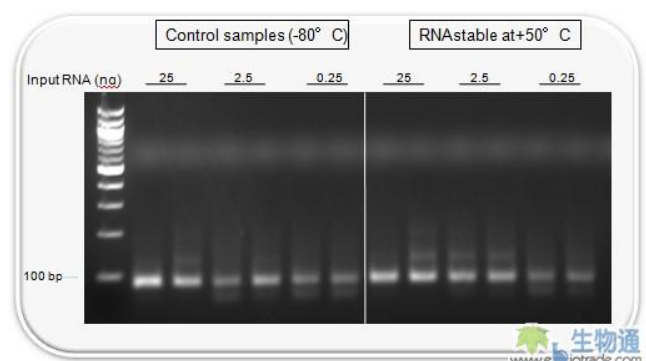
终点 PCR 及凝胶分析λ

cDNA 合成λ

反转录λ



使用 RNAstable, 在常温及 45 度下保存的总 RNA, 比在-80 度的效果还要好。

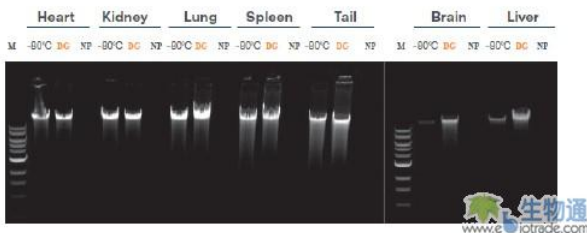


使用 RNAsable 来保存 microRNA (50 度), 18 个月后的效果

使用 RNAsable 后的样本可以完全和下游的其他分析兼容。美国 The Scripps Research 研究所的 Dr Steven R. Head (Biotechniques, 47 : 667-670,2009)使用 GLYCOv3 的芯片试验 (microarrays by Affymetrix) 来研究糖基因组, 发现使用 RNAsable 的样本 (14 天保存) 和冷冻样本没有任何区别。

Storage condition	Background	Noise	% Present	GAPDH (3'/5' ratio)	B-actin (3'/5' ratio)
RNAsable (RT)	37.3 ± 1.6	1.6 ± 0.2	59.3 ± 1.0	1.14 ± 0.06	4.22 ± 0.71
Control (-80°C)	37.4 ± 1.6	1.7 ± 0.1	59.4 ± 1.3	1.10 ± 0.06	

如果样本是组织或者是细胞的话, Biomatrica 公司的另外一款产品 DNAguard 可以在室温下保存长达 2 年, 而没有任何的核酸降解 (DG: DNAguard)。



#### 四、拥有运输、操作、存储三大主要优势

##### 1. 运输(Shipping)

- 减少干冰或冰袋运输装备及成本
- 避免干冰运输业务需办理的各种烦琐手续
- 避免长途运输延误收发件时间
- 珍贵样本保证其安全

##### 2. 操作(Handling)

- 避免样本混淆
- 成批处理样本, 提高工作效率, 节约时间和管理成本

##### 3. 存储(Storage)

- 无需超低温冰箱
- 减少存储空间
- 样本轻松查找存取
- 节约能源, 减少碳排量

##### 五、成功案例:

美国 Stanford University 使用该公司常温保存试剂所获得的预期效益:

- 10 年内可以为整个学校节省 1600 万美金
- 无需低温冰箱, 节省 200,000 百万制冷量 (BTU)
- 节省 18,000 立方吨的干冰
- 2 年内收回投资

##### 六、更多文献和连接:

Harvard University:

- <http://www.greencampus.harvard.edu/node/484>,
- [http://www.uos.harvard.edu/ehs/longwood/Green\\_Lab\\_Products\\_handout\\_7\\_29\\_09\\_Generic.pdf](http://www.uos.harvard.edu/ehs/longwood/Green_Lab_Products_handout_7_29_09_Generic.pdf)

•Harvard Medical School/PSI Material

Repository (PSI-MR):

<http://plasmid.med.harvard.edu/PLASMID/FAQ.jsp>

<http://psimr.asu.edu/PSIMRFAQ.html>

•National Institute of Justice:

<http://www.cstl.nist.gov/strbase/NIJ/Biomatrica.htm>,

[http://www.cstl.nist.gov/strbase/pub\\_pres/NIST\\_Update\\_SWGDAM\\_%20Jan2008.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/pub_pres/NIST_Update_SWGDAM_%20Jan2008.pdf)

[http://www.cstl.nist.gov/strbase/pub\\_pres/NIST\\_Update\\_SWGDAM\\_%20Jan2008.pdf](http://www.cstl.nist.gov/strbase/pub_pres/NIST_Update_SWGDAM_%20Jan2008.pdf)

•Empire Genomics

<http://www.empiregenomics.com/main/resources/faq/167-prepare-rna-sample-for-mailing>

•The Scripps Research Institute

<http://www.functionalglycomics.org/static/consortium/resources/resourcecoree2.shtml>

•Kevin DuerinkGenealogy Page

<http://www.duerinck.com/archvdna.html>

•BitesizeBio

<http://bitesizebio.com/2008/04/10/5-products-that-could-make-your-lab-life-easier/>

•RFID Monthly

<http://www.rfid-monthly.com/wp-content/uploads/2009/12/RFID-Monthly-December-09.pdf>

•DNA Direct

<http://www.dnadirect.com/web/article/dna-storage/dna-archive-home-storage/379/faqs>

•Array Star

[https://www.ewu.edu/groups/researchsymp/files/2009\\_symposium\\_program.pdf](https://www.ewu.edu/groups/researchsymp/files/2009_symposium_program.pdf)

•Lab Manager Magazine:

<http://www.labmanager.com/articles.asp?ID=271>

•Stanford University:

<http://medfacilities.stanford.edu/sustainability/downloads/RoomTempStoragePilotResults.pdf>

•UCSB:

[http://sustainability.ucsb.edu/conference/docs/2009Conference\\_Program.pdf](http://sustainability.ucsb.edu/conference/docs/2009Conference_Program.pdf)

[http://sustainability.ucsb.edu/conference/presentations/energy\\_innovative%20technologies%20in%20labs\\_Susan%20Kulakowski%20and%20Jensen.pdf](http://sustainability.ucsb.edu/conference/presentations/energy_innovative%20technologies%20in%20labs_Susan%20Kulakowski%20and%20Jensen.pdf)

现有免费样本试用，请联系吉奥了解详情：

<http://www.genoson.com/cn/main.asp>

# 赛默飞世尔科技推出全自动代谢物筛查软件 MetQuest

犹他州盐湖城（2010年5月25日）——赛默飞世尔科技在2010年美国质谱年会（ASMS）上宣布推出可同时实现定量和定性分析的全自动代谢物筛查软件 MetQuest，为药物代谢和药代动力学研究带来了革命性的突破。

MetQuest 软件充分利用了 Orbitrap 技术得到的高分辨率准确质量数数据，一次进样可以同时鉴定和定量分析化合物及其代谢产物。

全球科学服务领域的领导者赛默飞世尔科技公司今天推出了 Thermo Scientific MetQuest 软件，让实验室可以充分利用 Thermo Scientific Orbitrap 质谱得到高分辨率准确质量数（HRAM）的全扫描数据，一次进样可以同时鉴定和定量分析化合物及其代谢产物。与传统的多反应监测（MEM）方法相比，使用 MetQuest™ 软件可以为药物代谢和药代动力学（DMPK）的研究者节省可观的时间和费用。MetQuest 软件将在 2010 年 5 月 24-26 日犹他州盐湖城举办的美国质谱年会期间展示，展出地址为 Salt Palace Convention Center Salons 250BCEF。

MetQuest 软件与业界认可的 Thermo Scientific LTQ Orbitrap 或 Exactive 液相色谱/质谱（LC/MS）系统联用后，研究者可以在一次分析过程中完成常规的定性和定量分析。与代谢物研究所用的三重四极杆 MRM 方法相比，这种方法可以节省时间和费用。Zhang 和 Bateman 等人的文章报道了这种方法的定量结果，包括药物及其代谢产物的精密度、准确度、线性范围和灵敏度，都可以与已经建立的三重四极杆 MEM 方法媲美。

“在药物研发过程中，尽早同时得到定性和定量信息对于制药工业是极为重要的。”赛默飞世尔科技公司科学仪器部市场经理 Patrick Bennett 说，

“MetQuest 软件让用户可以同时定量和鉴定化合物及其代谢产物，并且不用重复全部实验（包括样品制备和 LC/MS 分析）就能随时查询数据，得到更多的补充信息。软件已经投入使用，业界因此受益，并将对 DMPK 实验室中 LC/MS 实验的执行方式产生根本性的影响。

研究和记录候选药物的代谢过程是药物研发早期阶段的关键步骤。使用 MRM 方法的三重四极杆系统常用作化合物的定量分析。这种系统的优点在于 MRM 方法的特异性，但同时也存在缺点。MRM 方法在检测某一特定化合物时很有效，但是却可能丢失样品中其他化合物的信息，比如代谢产物，除非预先设定了 MRM 方法检测这些化合物。MRM 方法还需要很长时间选择和优化参数，比如为每一个感兴趣的目标分析物选择母离子、子离子、分离和碰撞能量等参数。因此，时间、精力和必须的技术水平对于那些每天必须分析许多新化合物的实验室来说是十分重要的。

Orbitrap 专利技术尤其适合于化合物鉴定和同时定量和定性的高通量筛选。Orbitrap 具有高达 10 万的超高质量分辨率，能够排除化学噪声（如生物基质带来的同质量数的干扰），降低检出限和假阳性率。MetQuest 软件的专利算法，特别适合自动处理全扫描高分辨数据，即使面对最复杂的生物基质，也不需要预先设定扫描的质荷比就能够鉴定未知化合物。由于 MetQuest 软件不需要在串联质谱方法开发和优化过程上花费时间，可以更容易

地建立方法，而且一种方法适用于多种化合物的分析。与手动生成曲线的其他软件相比，从处理数据中自动生成代谢稳定性曲线的 MetQuest 软件可节约大量时间。

如果需要有关 MetQuest 软件或其他赛默飞世尔产品的更多信息，请在 ASMS 2010 期间访问 Thermo Scientific 展台 69，或访问 Thermo Scientific 迎宾室（Salt Palace Convention Center Salons 250BCEF）。如果需要 Thermo Scientific 质谱解决方案的更多信息，请致电 1-800-532-4742 或发邮件至 [analyze@hermofisher.com](mailto:analyze@hermofisher.com)。

---

### 关于赛默飞世尔科技

赛默飞世尔科技公司（纽约证交所代码：TMO）是全球服务科学领域的领导者，帮助客户使世界更健康、更清洁、更安全。公司年销售额超

过 100 亿美元，拥有员工 30,000 人，服务超过 350,000 个客户，我们的客户遍布各个领域：制药和生物科技公司、医院和临床诊断实验室、知名高校、科研院校、政府机构，以及环境和工业过程控制设备制造商等。通过公司旗下 Thermo Scientific 和 Fisher Scientific 两大品牌，我们帮助客户解决分析领域中从常规测试到复杂研发的各种挑战。Thermo Scientific 为客户提供全方位的高端分析仪器、实验室设备、软件、服务、耗材和试剂等一系列综合实验室流程解决方案。Fisher Scientific 则为卫生保健、科学研究、安全和教育领域提供整套实验室设备、化学品、其他用品和服务。我们一起努力为客户提供最方便的采购选择，不断改进我们的技术以加速科学发明的步伐，提升客户价值，为股东创造利润，使员工获得发展。欢迎登录 [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com) 或中文网站 [www.thermo.com.cn](http://www.thermo.com.cn), [www.fishersci.com.cn](http://www.fishersci.com.cn)。

# 沃特世推出全球第一款生物相容性 UPLC 系统

沃特世公司 (NYSE: WAT) 今天率先推出了同类产品中第一款沃特世® ACQUITY UPLC® H-Class Bio 系统, 通过优化的生物分子结构分析技术加快了治疗用生物药物的开发过程, 将 UPLC® 技术在科学研究以及商业领域的应用优势拓展到了生物大分子领域。

沃特世总部生物制药市场总监杰夫·马萨奥 (Jeff Mazzeo) 博士说: “由于生物大分子本身固有的复杂性, 因此它的分析极具挑战性, 这只能通过新的 ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统来解决。对于最近推出的沃特世 H-Class 系统, 可以很明显地看出 H-Class 技术不仅是 UPLC 和 HPLC 之间的连接桥梁, 更是最有潜力解决生物制药领域特定的分析挑战的理想方案。基于此, 沃特世对四元 H-Class 技术的工程设计在生物技术领域的成功寄予了厚望, 以满足分析实验室对 UPLC 色谱分离性能以及灵活使用储备流动相溶剂的要求。新的 ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统提供了出色性能和极佳的生物分子分离效果, 帮助用户获得他们正在研发的生物药物的更真实信息。”

在具有流通针是样品管理器和四元溶剂管理器的 ACQUITY UPLC H-Class 系统平台的基础上, 新系统具有用来剖析复杂生物分子所需要的多重创新技术。此外, 新系统还使用全惰性的流体管路, 利用沃特世 Auto•Blend Plus™ 技术来优化蛋白质、肽、核酸和多糖的分析。

由于所有的生物大分子都非常复杂, 生物化学家们通常需要使用一种或多种不同机理的色谱技术才能准确地对生物大分子进行分离和剖析。UPLC 技术和卓越性能已经得到了广泛的认可和应用, 在她的推动下, ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统能够在一套系统上灵活运作四种色谱方法: 反相色谱、离子交换 (IEX)、分子排阻 (SEC)

以及亲水作用色谱。现在, 科学家们能够在一套 UPLC 系统上进行蛋白质分析所有相关的分离实验。

例如, ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统能够与沃特世新的生物分离专用色谱柱进行完美结合: ACQUITY UPLC BEH200 SEC 分子排阻色谱柱, 第一个 UPLC 分子排阻色谱柱, 适合用于蛋白质及蛋白质聚合物的分析; Protein-Pak Hi Res 离子交换色谱柱, 设计用于包括单克隆抗体、重组蛋白、DNA/RNA, 以及疫苗等生物分子的分析。这些独有的应用型色谱柱与 ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统相结合, 为充分剖析一个蛋白质治疗药物提供了互补的色谱分离技术。

除了方法开发的灵活性, UPLC 用户还向我们反映说他们需要一个使用特殊材料的新系统, 以应对生物大分子分析中的特殊困难。正是基于此, ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统采用耐腐蚀的全惰性材料制成, 特别适合用于生物分子分析用的高盐流动相条件。此外, 我们对整个流路系统都进行了严格的测试, 确保蛋白质和管路的次级相互作用最小, 且惰性材料溶出到流动相中的溶出物最少。

最后, 沃特世 Auto•Blend 技术是获得最佳保留和分离选择性的关键因素, 不同 pH 和不同洗脱强度的流动相完全通过系统自动混合得到。Auto•Blend Plus 是专利的软件技术, 通过 ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统四元溶剂管理

器自动对有机溶剂的百分比、pH 值和离子强度进行调节来调控流动相的洗脱强度,以获得最大的色谱分离选择性。此系统可以更具用户的需要对溶剂和缓冲溶液进行混合来优化色谱分析方法,并将方法最准确转移到其它实验室。

如需了解 ACQUITY UPLC H-Class Bio 系统的更多信息,请参考沃特世以下网址:  
[www.waters.com/hclassbio](http://www.waters.com/hclassbio), 或 [点击此处索取资料](#)。

关于 ACQUITY UPLC ([www.waters.com/uplc](http://www.waters.com/uplc))

ACQUITY UPLC 系统系列显著减少了样品的分析时间和分析成本,同时提高了分析结果的质量。通过超越传统的或优化的 HPLC, ACQUITY UPLC 系统为色谱工作人员提供了更高的线速度、流速和背压,提高了他们的工作效率。在全球实验室得到广泛应用、成功用于各种最高要求的分离应

用的 UPLC 技术是一个十分强健、可靠和可重复的系统。ACQUITY UPLC 系统采用了沃特世专利的不足 2 微米的混合颗粒化学作用,明显优于目前配备标准 5 微米颗粒的化学作用的 HPLC 系统。

关于沃特世公司 ([www.waters.com](http://www.waters.com))

50 年来,沃特世公司 (NYSE:WAT) 通过提供实用且可持续的创新,实现了全球医疗保健、环境管控、食品安全、水质监测等领域的显著进步,为基于实验室的许多机构创造了商业价值。

沃特世的技术突破和实验室解决方案开创了分离科学、实验室信息管理、质谱技术和热分析的相互组合,为客户提供了一个持久成功的平台。

沃特世公司 2009 年的总收入达 15 亿美元拥有 5,200 名员工;公司正在帮助全球客户推进科研进程,并为其提供绝佳的操作体验

# RNAGEM 核酸快速提取试剂盒： 简单,快速,低成本,绿色环保

RNA 提取实验已经是大家耳熟能详的基础生物学实验了，目前有关 RNA 提取的试剂盒产品也是五花八门，各具特色，我们也都知道，从原始样本到试剂盒操作提取，到核酸的步骤越多，无疑最后得到的数据相对于样本的真实性偏离得越远，那么有没有什么方法能打破这个局限性，尽量省去中间操作步骤而减少实验误差呢？又或许您手头正有一批成百上千个样本正要提取 RNA 用于下游实验，但又没有条件能用到核酸自动纯化仪而且课题经费限制不能买与之配套的昂贵的纯化试剂盒。所以，有没有既简便又实惠的纯化试剂盒能满足以上的要求呢？现在，我们非常肯定地告诉您答案：有。北京吉奥生物（[www.genoson.com](http://www.genoson.com)）向您推荐 Zygem 公司生产的 RNAGEM™核酸纯化系列产品，轻松解决上述所有问题。

ZyGEM 公司现推出完全不同于传统 RNA 提取的新型 RNAGEM™核酸纯化系列产品，主要有 RNAGEM™ Tissue 和 RNAGEM™ Tissue Plus 两大类，用于从哺乳动物细胞、激光捕获微组织以及流式细胞检测样本如巨噬细胞等快速自动化提取 RNA。所有的反应均在 PCR 管中进行，单管封闭操作，仅需控制温度，整个过程只需 20 分钟，中途无需过柱离心等烦琐步骤，非常适合大规模自动化提取。所得的 RNA 无需纯化，可直接用于 RT-PCR。

## 一、核心技术

RNAGEM™ Tissue 产品核心技术源于 Zygem 公司独一无二的酶的催化反应：EA1 蛋白酶，一种来自于新西兰 Mount Erebus 极端环境微生物的蛋白酶。该蛋白酶的特点：

属于金属蛋白酶（Metalloproteinase）

在 pH6.7 时，具有最佳活性

在 75°C 具有最佳蛋白酶活性

在 75°C 放置 7 天，没有任何活性损失

在 85°C 的半衰期为 1 小时

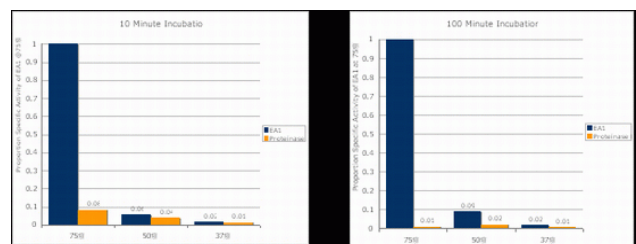
在 95°C 的半衰期为 10 分钟（5 mM CaCl<sub>2</sub>）

在 95°C 的半衰期少于 1 分钟（200 μM CaCl<sub>2</sub>）

95°C 孵育 5 分钟后，活性完全丧失

37°C 没有任何活性

EA1 蛋白酶与蛋白酶 K 的活性比较，下图可以明显看出，无论是在 75 度还是 50 度 EA1 蛋白酶的活性远远高于蛋白酶 K



- In a 10 minute assay, Proteinase K at 50°C achieves only 3.7% of the specific activity of EA1 at 75°C.

- In a 100 minute assay, this value is reduced to 2.1%

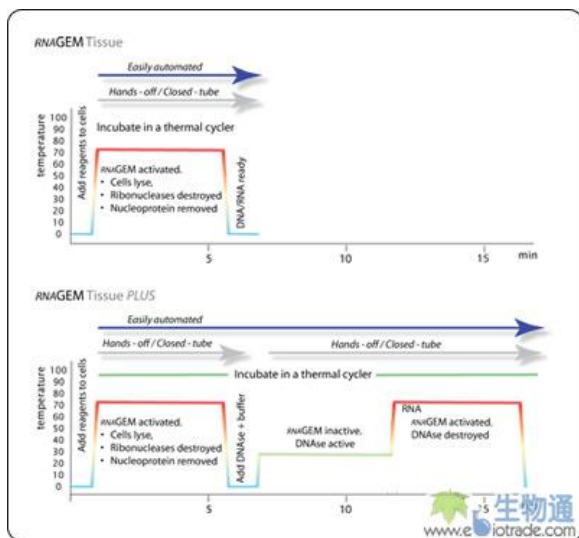
## 二、产品优点

**RNAGEM™** 核酸纯化系列产品，以其简单方便的操作和高质量的 RNA 得率，助您分析样本最真实的基因表达水平：

- 用于从哺乳动物细胞、激光捕获微组织以及流式细胞检测样本如巨噬细胞等快速提取 RNA 的方法。
- 可实现快速、自动化地从细胞中提取核酸，包括 RNA 和 DNA。
- 所得的 RNA 无需纯化，即可直接进行 RT-PCR 反应。
- 操作步骤简单且没有原材料的损失，RNAGEM™ 甚至能够从 1 个细胞中提取核酸。

**工作流程：**其特点为：1-2-3，即 1 支管子，2 步反应，第 3 步就可以得到用于下游反应的核酸

**RNAGEM™** 是已经优化好的试剂混合物，能够有效裂解细胞、去除 RNAses 以及水解蛋白。RNA 提取过程在 75°C 下进行，无需更高温度。在使用 RNAGEM™ Tissue PLUS 试剂盒时，当提取过程结束后，即加入 DNase，37°C 5min 孵育，激活 DNase；之后升温至 75°C，激活 RNAGEM 酶，并且水解 DNase，而无需再加入 EDTA。



**操作简单：**无需多步骤离心、洗涤、真空抽滤和过柱。您需要的仅仅是一台 PCR 仪或温度控制加热器。

**高效安全：**只需要 5 分钟时间的孵育即可。无需用到有毒有害试剂，如 GITC、苯酚、异丙醇等，单管封闭的操作体系有效降低汽溶胶污染和操作失误，同时也降低实验人员暴露各种生化环境所受的危险。

**高产率：**RNAGEM™ 能够从 10-100,000 个细胞中提取 RNA，甚至可以从单个细胞中提取 RNA，并且包括小分子量 RNA，同时保持极高的线性关系

**无需纯化：**所得的 RNA 可直接用于 RT-PCR。

产品所有优点都只为更好地应用于科研，让实验变得更简单，更省心，更安心。

无需花大量时间做样本预处理

无需昂贵的大型仪器及配套试剂

节省大量管和枪头的费用

避免接触苯酚等毒害试剂，健康环保

操作简便省时，可以快速进入下游基因表达实验，并得到 100% 可重复结果

相比其它试剂盒 RNA 产量更高

提取所有 RNA，包括非编码 RNA，如 microRNA 等

### 三、RNAGEM™ 与 Trizol® 的比较

**RNAGEM™** 与 Trizol 相比，无论是在实验操作方面还是在 RNA 得率方面均显示其独特优势。

Trizol 方法提取需经过裂解、洗涤、沉淀等许多步骤，但 **RNAGEM™** 却集这些步骤为一体，只需一步孵育过程，即可得到高质量 RNA。

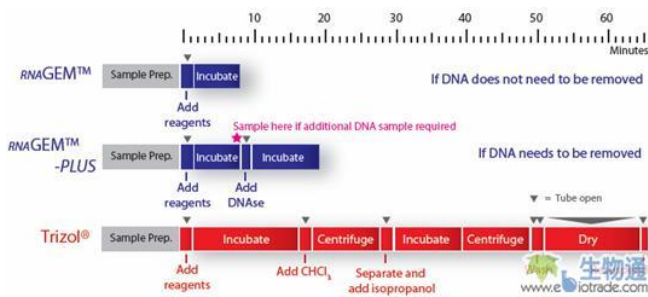
- RNAGEM 基因拷贝数极好的线性关系，即使低拷贝的基因也是如此

- RNAGEM 对于少量细胞的样本量也可行，即使是单个细胞。所有试剂均与 RT-PCR 兼容

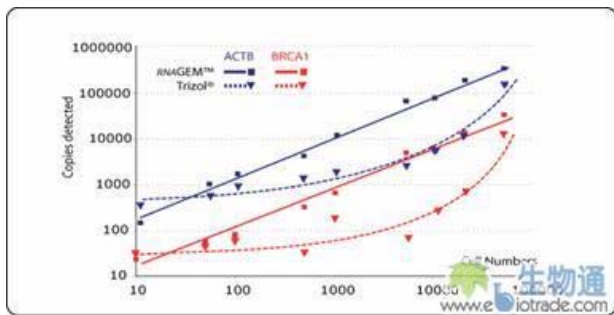
- 对于细胞数量少的样本，Trizol 方法明显有不足之处，RNA 得率相对较低

- RNAGEM 简单封闭单管操作，适合大规模自动化

- Trizol 实验中的一些步骤如沉淀或洗涤等很难统一，因此不同样本间一致性较差



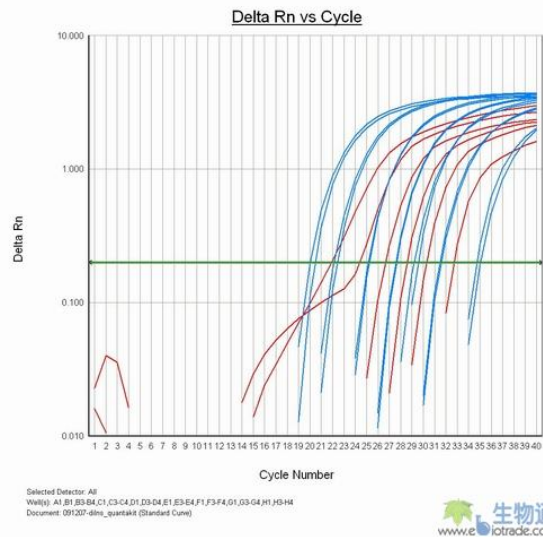
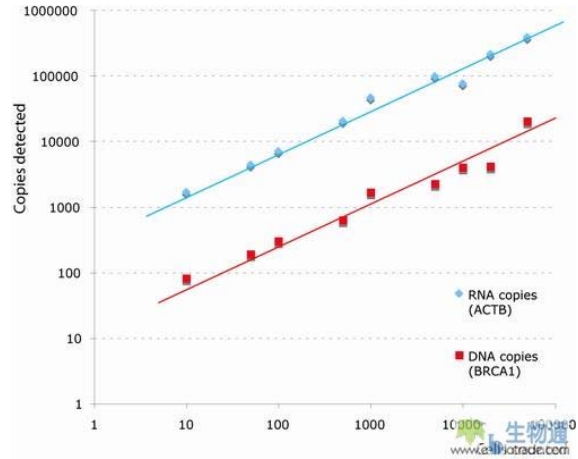
RNAGEM™ out-performs Trizol® over a wide range of cell numbers



在上图中，不同 Hela 细胞数目和 mRNA 拷贝数的关系，可以看出 RNAGEM 具有极高的线性，

不管是对高拷贝数的 mRNA (ACTB),还是低拷贝的 mRNA (BRCA1)。

10-100, 000 个细胞中基因拷贝数与原始细胞量保持极好的线性关系



除了以上介绍的 RNA 快速提取试剂盒，北京吉奥生物还拥有该公司的 DNA 快速提取试剂盒，可以广泛用于法医，畜牧，及基础研究。详情请登录吉奥生物 ([www.genoson.com](http://www.genoson.com)) 或 [点击此处](#) 索取资料。

# 设计一个成功的 IHC/ICC 实验 (FAQ)

R& D Systems 位于细胞生物学行业领先地位, 2009 年 NATURE 系列刊物就有 790 篇论文使用 R&D Systems 的产品。高质量的 IHC 抗体不仅提供低背景高信号的染色结果, 而且可以反映组织生理学的真实结果。R& D Systems 抗体交叉反应低, 特异性高, 保证了真实可靠的信号结果。

## 索取《R&D Systems® IHC 指南》

### 1. R&D Systems 一抗的质量如何?

为保障实验结果的可靠性, 使用低交叉反应的高品质抗体。R&D 抗体主要采用活性重组蛋白作为免疫原, 而不是人工合成的多肽。IHC/ICC 抗体经过实验多重筛选及不同组织测试, 避免了由于抗体的品质问题而导致的科研人员时间与样本的浪费, 保证了真实可靠的信号结果。

### 2. R&D Systems 一抗 IHC 应用区分石蜡和冰冻切片吗? 区分 IHC 和 ICC 吗?

R& D Systems 抗体经过不同的细胞及组织材料的筛选, 能特异性识别石蜡和冰冻切片中的抗原, IHC 和 ICC 相互通用。

### 3. 做 IHC/ICC, 选择单抗还是多抗?

单抗和多抗的固有特性决定了其优劣势。单抗, 由单个 B 细胞克隆产生的, 具有高亲和力和针对单个抗原表位的特异性。如需检测具有相同氨基酸序列的蛋白家族, 单抗就非常适合。单抗和抗原结合的效果取决于抗原能否保持其天然构象。但是抗原的构象一旦由于各种原因发生改变, 如由于蛋白相互作用, 翻译后修饰, 温度, pH, 固定, 盐浓度等, 单抗和抗原结合的效果会受到严重影响。

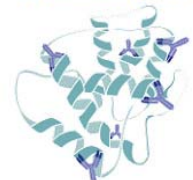
由于多抗可以识别多个表位, 不太受蛋白质构象变化的影响。一般来说, 在一定的 pH 值和盐浓

度范围内, 多抗也比单抗更加稳定。基于这些原因, 多抗比单抗更适合 IHC/ICC 实验。与其他公司多抗不同, R& D Systems 有一类经抗原亲和纯化的多抗 (货号以 AF 开头), 该多抗通过抗原亲和柱的纯化提高了特异性, 更加适合 IHC/ICC 实验。

Monoclonal Antibody Binding



Polyclonal Antibody Binding



**Monoclonal and Polyclonal Antibody Binding.** Monoclonal antibodies bind only a single epitope, while polyclonal antibodies bind different epitopes on the same protein.

### 4. 一抗试剂的孵育条件? 一抗浓度, 温度, 时间?

一抗抗体浓度, 稀释, 孵育时间和温度都会影响染色质量。这些变量需要针对不同抗体和样品进行优化, 以达到高特异性, 低背景的信号。一般的优化过程是, 保持固定的孵育时间和温度, 同时改变抗体的浓度以决定最佳的低噪音背景的信号。例如, 使用一只高亲特异性抗体, 可以使用相对较高的抗体浓度配套较短的孵育时间; 或者, 相对较低的抗体浓度配套较长的孵育时间。为促进特异性染色, 常选用较长的孵育时间及较低温度下进行 (如室温和 4°C)。

R&D Systems 的染色优化方案: 对于组织切片, 起始优化条件是 4°C 孵育过夜; 对于染色细胞, 起始优化条件是室温孵育 1 小时。经抗原亲和纯化的多抗 (1.7-15 ug/mL) 较单抗 (5-25 ug/mL)

的工作液浓度低。如使用不同浓度的同一抗体比较样本的染色效果，孵育时间和温度一定要一致。在实验室中使用新抗体时，建议进行预实验测试教广的抗体浓度。

### 一抗孵育的起始优化条件

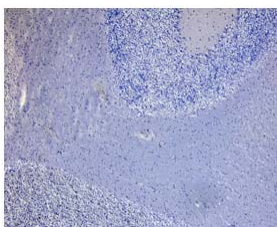
样本	抗体	
	单抗	多抗
组织	5-25 ug/mL, 4°C 孵育过夜	1.7-15 ug/mL, 4°C 孵育过夜
细胞	5-25 ug/mL, 室温孵育 1 小时	1.7-15 ug/mL, 室温孵育 1 小时
优势	单抗原表位特异性	工作浓度低
劣势	易受抗原表位的变化影响	非特异性高, 需经过抗原亲和纯化

### 5. 做石蜡切片 IHC, 推荐什么抗原修复技术?

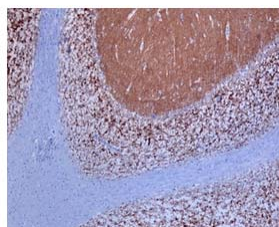
背景知识: 日常工作中所使用的 10% 福尔马林固定的石蜡包埋组织, 经常产生蛋白交联反应遮蔽了组织内某些蛋白抗原, 阻碍了抗原与抗体的结合。为了打开蛋白间的交联, 使被封闭的抗原充分暴露, 抗原修复技术在免疫组化操作过程中是个极其重要的环节, 不同抗原修复方法直接影响免疫组织化学染色结果的表达。

R&D Systems 建议客户采用热修复的方法, 并提供了高度优化的抗原修复试剂, 有效修复抗原并提高免疫反应的效果: 碱性抗原修复液(Catalog # CTS013), 酸性抗原修复液 (Catalog # CTS014), 中性 pH 7.0 抗原修复液(Catalog # CTS015), 含有前 3 种修复液的综合修复液 (Catalog # CTS016)。在 R&D Systems 的实验室中, 我们发现使用碱性抗原修复 (Catalog # CTS013)容易取得良好的修复效果。

抗原未修复



抗原修复后



人小脑组织 Neuroplastin 65

一抗: 3 µg/mL goat anti-human/mouse Neuroplastin 65 polyclonal antibody : Catalog # [AF5360](#)

抗原修复: Antigen Retrieval Reagent-Basic (Catalog # [CTS013](#)).

染色: Anti-Goat HRP-DAB Cell & Tissue Staining Kit (brown, Catalog # [CTS008](#)) and counterstained with hematoxylin (blue).

### 6. 如何做对照?

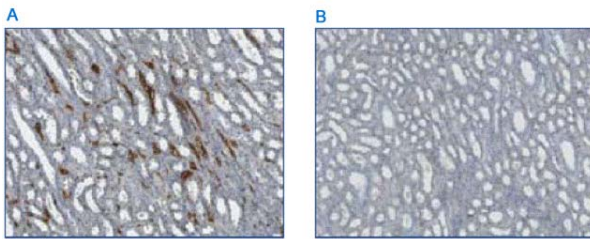
合适的对照对解释 IHC/ICC 的结果的真实性是至关重要的。一个令人满意的 IHC/ICC 实验设计会显示抗原位于正确的特定组织, 细胞类型, 或亚细胞位置。我们推荐: Endogenous Tissue Background Control, No Primary Antibody Control, Isotype Control, Absorption Control, Tissue Type Control。

### 7. 做 IHC, 如何避免非特异性染色? 如何选择染色试剂盒?

所有 IHC/ICC 研究具体取决于抗体抗原结合, 由疏水作用, 离子相互作用, 氢键结合以及其他分子间作用力等控制。然而, 同样的引力也可能导致非特异性染色, 即一抗结合了抗原表位以外的氨基酸。这是在 IHC/ICC 中是一个常见的问题。我们面临的挑战是减少非特异性相互作用, 而不影响抗体的抗原表位结合。

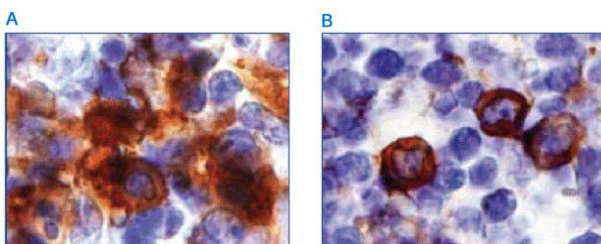
非特异性染色的原因包括一抗和二抗与和血清蛋白的相互作用, 抗体和组织间的离子相互作用, 能影响 IHC 检测系统的内源性分子的相互作用。这些问题可能导致高背景从而无法观察到目标蛋白的表达位置。通过使用阻断剂(a blocking reagent), 可以修正非特异性染色, 而这些修正步骤都必须在一抗孵育之前完成。

### 封闭效果比较:



#### 内源性过氧化酶的影响

A. 未灭活内源性过氧化酶 B. 使用过氧化酶灭活试剂处理 15 分钟



#### 石蜡包埋的人扁桃体组织 CD14

A. 未经动物血清封闭 使用动物血清室温封闭 15 分钟

实验试剂: 抗人 CD14 生物素化亲和纯化多抗 (货号: BAF383, Sheep IgG), 碱性抗原修复液(货号: CTS013), R&D Systems® 高敏染色试剂盒 (CTS019, Sheep Kit)

R&D Systems® 高敏 IHC 染色试剂盒 (Cell and Tissue Staining Kit) 是基于 LSAB 原理的高度优化试剂盒。高敏 IHC 染色试剂盒在原料上选用高特异性生物素二抗, 高灵敏链酶亲和素链接酶 (HS Streptavidin-HRP)。高灵敏链酶亲和素链接酶 (HS Streptavidin-HRP) 不与磷脂, 核酸, 及糖类结合蛋白结合, 只与生物素化二抗结合, 降低实验背景; 染色试剂盒提供的 4 种封闭试剂 (过氧化酶, 亲和素, 生物素, 血清) 能有效预防非特异性染色。

Molecule	Species	Description	Cat. Number	Size
HRP-AEC	Goat	Anti-Goat HRP-AEC Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS009</a>	50 Tests
HRP-DAB	Goat	Anti-Goat HRP-DAB Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS008</a>	50 Tests
HRP-AEC	Mouse	Anti-Mouse HRP-AEC Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS003</a>	50 Tests
HRP-DAB	Mouse	Anti-Mouse HRP-DAB Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS002</a>	50 Tests
HRP-AEC	Rabbit	Anti-Rabbit HRP-AEC Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS006</a>	50 Tests
HRP-DAB	Rabbit	Anti-Rabbit HRP-DAB Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS005</a>	50 Tests
HRP-AEC	Rat	Anti-Rat HRP-AEC Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS018</a>	50 Tests
HRP-DAB	Rat	Anti-Rat HRP-DAB Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS017</a>	50 Tests
HRP-DAB	Sheep	Anti-Sheep HRP-DAB Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS019</a>	50 Tests
HRP-DAB	Sheep	Anti-Sheep HRP-DAB Cell and Tissue Staining Kit	<a href="#">CTS020</a>	50 Tests

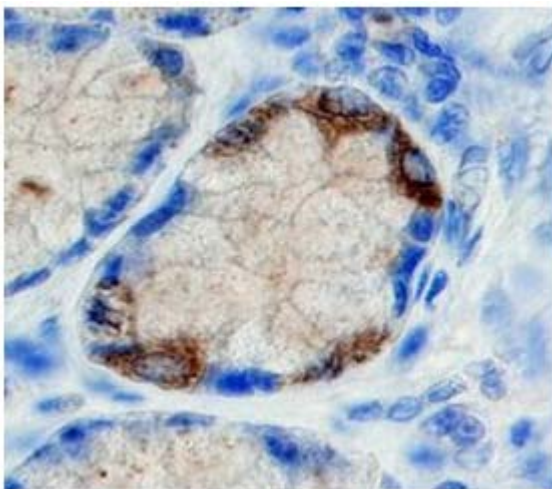
#### 优点

- 即开即用
- 高检测灵敏度
- 适合冰冻切片, 石蜡包埋切片, 悬浮细胞等,
- 适合细胞涂片(cytospin)(如淋巴细胞, 单核细胞, 转染细胞)

- 适合多种一抗, 如 goat, mouse, rabbit, rat, sheep IgG.

组分

- 4 种封闭试剂 (过氧化酶, 亲和素, 生物素, 血清)
- 高特异性生物素二抗
- 高灵敏链酶亲和素 HRP (HS Streptavidin-HRP)
- DAB (褐色) or AEC (红色) 染料和缓冲液



人胃癌石蜡切片 Wnt-2

一抗: 10 µg/mL 山羊抗人 Wnt-2 亲和纯化多抗(货号 [AF3464](#)).

抗原修复: 碱性热修复 (货号 [CTS013](#)).

染色: R&D Systems®高敏染色试剂盒 (棕色, 货号 [CTS008](#), Goat Kit); 苏木精复染(蓝色).

实验方法: [IHC Enzymatic Protocol 1.0](#).

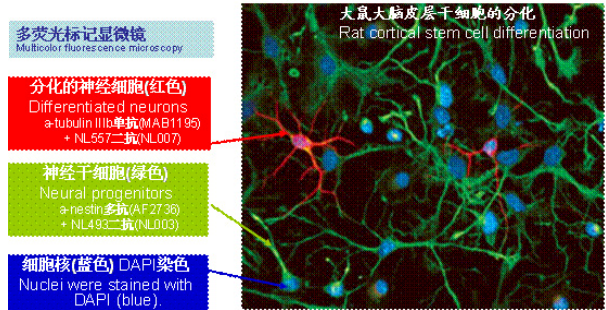
8. 做 ICC, 如何选择荧光二抗?

NorthernLights 荧光抗体耐光漂白, 明亮, 是多色荧光显微的理想选择. 他们的光谱接近几个常用的荧光染料, 可与普通过滤器设备或激光器配套使用 (见下表)。

优点

- 明亮、不易褪色

- 特异信号强
- 在酒精和二甲苯中稳定
- 应用于荧光显微镜 (ICC)、免疫组化 (IHC)、流式细胞仪 (Flow Cytometry) 等。



NorthernLights Secondary Reagents	Cat. #	Abs/Em Maxima	Laser (Ex)	Fluorochromes with Comparable Spectrums (Abs/Em)
NL-493 anti-Sheep IgG	<a href="#">NL012</a>	493/514	Argon (488)	FITC (492/520) Cy™2 (489/506) Alexa Fluor® 488 (494/519)
NL-493 anti-Rabbit IgG	<a href="#">NL006</a>			
NL-493 anti-Mouse IgG	<a href="#">NL009</a>			
NL-493 anti-Rat IgG	<a href="#">NL015</a>			
NL-493 anti-Goat IgG	<a href="#">NL003</a>			
NL-493 Streptavidin	<a href="#">NL997</a>			
NL-493 anti-Chicken IgY	<a href="#">NL018</a>			
NL-557 anti-Sheep IgG	<a href="#">NL010</a>	557/574	Krypton (568) HeNe (543)	Phycoerythrin (565/575) Rhodamine Red™ X (570/590) Cy™3 (548/562)
NL-557 anti-Rabbit IgG	<a href="#">NL004</a>			
NL-557 anti-Mouse IgG	<a href="#">NL007</a>			
NL-557 anti-Rat IgG	<a href="#">NL013</a>			
NL-557 anti-Goat IgG	<a href="#">NL001</a>			
NL-557 Streptavidin	<a href="#">NL999</a>			
NL-557 anti-Chicken IgY	<a href="#">NL016</a>			
NL-637 anti-Sheep IgG	<a href="#">NL011</a>	637/658	HeNe (633)	Allophycocyanin (645-660) Alexa Fluor® 647 (650-668) Cy™5 (650/670)
NL-637 anti-Rabbit IgG	<a href="#">NL005</a>			
NL-637 anti-Mouse IgG	<a href="#">NL008</a>			
NL-637 anti-Rat IgG	<a href="#">NL014</a>			
NL-637 anti-Goat IgG	<a href="#">NL002</a>			
NL-637 Streptavidin	<a href="#">NL998</a>			
NL-637 anti-Chicken IgY	<a href="#">NL017</a>			

### 9.DAB 染色信号微弱，需要增强免疫染色？

为更好的将抗原抗体结合的微弱信号进行有效的放大，使很多以前表达较弱的抗原加强染色效果；DAB 增强试剂 Catalog # [CTS010](#)（浓度为 50X ， 3 mL)可以加强 DAB 染色。使用 DAB 增强试剂后, DAB 染色产生灰黑色的染色且背景低。

激情世博，轻松 IHC！一次性订购 IHC 产品满 5000 元，即赠送一张世博卡。详细信息请看：  
<http://www.ebiotrade.com/custom/RD/100526/index.htm>

# 原位微量 PicoGreen 法定量 DNA 浓度

Peter Brescia, MSc. and Peter Banks, Ph.D., BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT

## 介绍

BioTek 公司的 Take3(TM)超微量多体积检测板是一个非常灵活的应用工具，可以用于全光谱的吸收光读数，广泛覆盖了吸收光检测的各项应用，同时可以灵活控制样品的体积，并在微孔板检测仪上进行相关定量检测。微量未经稀释的 DNA，RNA 以及蛋白样品的定量目前主要是通过原始吸收光测定来完成的。通过 Take3 模块，用户可以进行 16 个体积为 2ul 样品的吸收光检测，并保证优异的准确性和精确性。对于测序、qPCR 以及蛋白分析等下游工作，需要进行快速微量核酸蛋白样品定量的客户来说，Take3 是个非常好的辅助检测工具。

Take3 板同时还可以完成基于比色法的检测分析。微量检测板既可以作为反应容器也可以作为样品检测容器，因此既可以简化流程也可以节省样品。实验证明在 Take3 上原位完成检测与传统在其他容器中反应过后加样检测的流程相比，可以明显提高检测的准确性。

本文介绍了使用 Take3 板进行微量荧光 DNA 定量的方法。实验中我们使用 Synergy™ 多功能微孔板检测仪进行最终检测，采用 Quant-iT PicoGreen 荧光检测试剂进行标记，探讨 DNA 定量的线性范围和最低检测浓度。

## [索取 Take3 多体积板的详细资料](#)

### 材料和方法

#### 材料

Quant-iT PicoGreen dsDNA 定量试剂盒购于 Life Technologies, Molecular Probes Division (Eugene, OR, PN-P7589)。PicoGreen 试剂新鲜配制，使用 15ul TE 缓冲液稀释，避光保存，并于 2 小时内使用。DNA 标准，来源于青鱼卵 dsDNA(Sigma,PN-A3294)。储存于 TE 缓冲液中 (tris-EDTA, pH7.0)。

## 方法

所有 PicoGreen 反应和检测均在 Take3 板上完成。操作方法与之前介绍的原位法 BCA 蛋白定量相似。图 1 显示了操作流程和 Take3 板上的排布方法。简而言之，将 2ul 的标准品和未知样品分别加到 Take3 板的相应检测点位上。然后在相同位置上分别加入 2ul 的 PicoGreen 试剂，使两者比例为 1:1，然后用枪头轻轻吹打混匀（注意不要产生气泡）。空白样品为 2uL 的 TE 和 2uL 的 PicoGreen 试剂加在 Take3 板上的相应检测点位上，同样方式混匀。然后将 Take3 板盖合拢，室温下避光孵育 5 分钟。在 SynergyH4 的光栅光路和滤光片光路上进行检测或者在 SynergyHT 进行检测。所有检测均使用 Gen5™ 软件进行操作和数据分析。所有样品均逐孔进行顶部底部检测，重复 2—3 次，甲醇拭去样品及残留试剂。

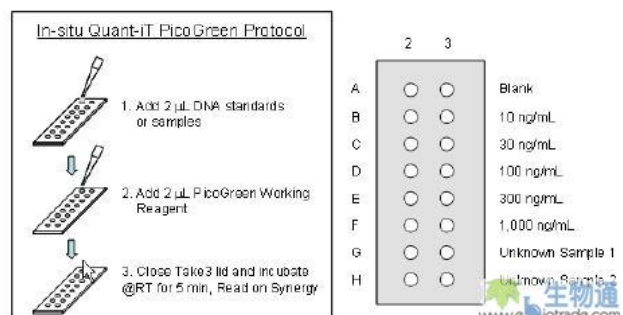


图 1: Take3 板图中描述了 Lambda dsDNA 标准品以及 4 个未知样品的浓度和位置。该图提示 6 个标准品, 双复孔 A-F 成列排布, 原位微量分析浓度范围 10-1000ng/mL。

#### 仪器设定和数据分析

Synergy H4 全功能微孔板检测仪的双光栅和滤光片光路以及 SynergyHT 的顶部荧光检测光路用于进行 DNA 溶液的定量。光栅光路均选择 9nm 带宽, 激发波长 495nm, 发射波长 526nm。Z 轴垂直高度设于 6mm 可获得最好的信噪比 (S/N)。滤光片光路选择激发光 485/20nm 滤光片, 发射光选择 528/20nm 滤光片。所有 Synergy 检测均采用氙灯光源 (滤光片光路采用高能氙灯)。Gen5 软件使用自动校准灵敏度收集信号, 设定 F2:F3 (1000ng/mL) 孔 DNA 浓度为最高, 对应每点 255 次检测, 相对荧光信号值为 60000。

Take3 板采用白色特氟龙图层打印膜确定检测微点位置, 可以在 Synergy 光栅光路进行检测。光栅所产生的检测光束横截面小于微点的横截面。对于滤光片系统而言, 荧光背景信号高从而降低了检测性能, 无法进行低浓度 DNA 的定量, 如果采用黑色特氟龙图层膜, 就可以明显降低荧光检测的背景。本文所进行的所有检测均采用黑色特氟龙图层的检测板。

所有 DNA 检测均使用空白矫正。信噪比 (S/N) 通过每孔平均荧光信号的标准差扣掉空白值来确定。标准曲线采用线性回归方程。

#### 结果讨论

6 个标准品浓度测定的标准曲线确定了 PicoGreen 分析的 DNA 定量范围是 10-1000ng/mL。图 2 显示了每种检测光路所得到的标准曲线。除光路不同以外, 所有检测均采用方差线性回归分析, R2 值均 > 0.999, n=3。很明显,

从标准曲线的斜率上看, 滤光片系统提供了良好的检测灵敏度。

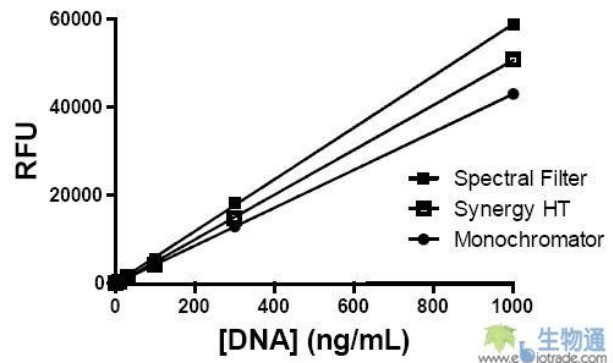


图 2: SynergyH4、SynergyHT 的光栅和滤光片光路的最小方差线性回归分析。误差线代表 SEM (n=3)

图 3 显示了几种光路的标准曲线中每孔 DNA 浓度的 S/N 值。可以看到光栅检测光路在低浓度 DNA ( $\leq 100$ ng/mL) 检测时 S/N 明显增高。这时所产生的低背景效果是由于光栅提供了较细的检测光束。由于滤光片系统具有更好的透光效率, 因此在较高浓度 DNA ( $\geq 100$ ng) 时, 具有更好的 S/N 值。

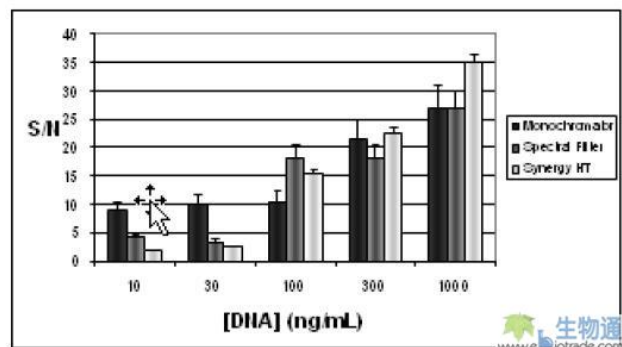


图 3: 每种光路下采用标准曲线分析 DNA 浓度时的 S/N 值。误差线反映了空白孔和 DNA 检测孔的错误程度 (标准差)。

Take3 上的 16 个微量检测通道可以同时满足标准曲线和样品的检测。通过原位进行加样操作及检测, 由于不同孵育时间、温度及不同操作所带来的误差被降低了。按图 1 中显示的 Take3 板加样检测顺序, 采用 SynergyH4 的光栅光路对未知

低浓度 DNA 样品 (25ng/mL) 和高浓度 DNA 样品 (500ng/mL) 进行定量获得很好的准确性。两个 DNA 样品定量的准确性分别是+1.6%和-3.0%。同理, 在 Synergy 系列微孔板检测仪上均获得相同的检测效果。

#### 结论

Take3 超微量多体积检测板可以用于进行低浓度荧光法 DNA 定量。其 DNA 定量的最低浓度可以达到 ng/mL。这种方法有效的将传统 A260 吸收光检测的动态范围提高了 3 个数量级。原位操作的方法, 将样品、标准品以及 PicoGreen 试剂直接加在 Take3 检测板上, 整个操作简单方便节省样品和检测试剂并提高了检测的准确性。Take3 可以在全部 Synergy 产品线上进行微量的样品分析。

#### 参考文献

1. Brescia, P. and Banks, P. Multi-Volume Analysis of Nucleic Acids using the Epoch™

Spectrophotometer System, Winooski, (VT), BioTek Instruments, Inc., Nov, 2009.

2. Brescia, P. and Banks, P. Analytical Performance of Nucleic Acids Micro-Volume Quantification Using the Epoch™ Spectrophotometer System, Winooski, (VT), BioTek Instruments, Inc., Dec, 2009.

3. Brescia, P. and Banks, P. Analytical Performance of Epoch™ Multi-Volume Spectrophotometer System for Protein Quantification, Winooski, (VT), BioTek Instruments, Inc., Jan, 2010.

4. Brescia, P. and Banks, P. In-situ Micro-Volume Bicinchoninic Acid Protein Assay, Winooski, (VT), BioTek Instruments, INC., Feb, 2010.

# 6 月冷泉港实验方案发布 RNA 基本操作

冷泉港出版社计划在今年年底推出一本关于 RNA 的新书《RNA: A Laboratory Manual》，那么 6 月份的冷泉港实验方案就包括了其中部分内容的早期预览。这些实验方案覆盖了基本的 RNA 技术，包括利用 TRIzol (TRI Reagent) 纯化 RNA，通过 SDS 溶解和苯酚抽提纯化 RNA，RNA 的乙醇沉淀，从组织培养细胞中制备细胞质和核 RNA，从 RNA 中去除 DNA，以及 RNA 的聚丙烯酰胺凝胶电泳等。

在这些技术中，最重要且最常用的 RNA 分析技术当数凝胶电泳了。此技术通常用于 RNA 检测、定量、纯化和质量评估。两种最常用的凝胶类型分别是聚丙烯酰胺和琼脂糖。聚丙烯酰胺凝胶用在大部分应用中，适合于 600 nt 以下的 RNA。琼脂糖则适合更大的 RNA。于是这一期的 CSH Protocols 就将 RNA 的聚丙烯酰胺凝胶电泳这一实验方案开放，供所有读者浏览，点击下面的标题可浏览具体的操作步骤。

## [Polyacrylamide Gel Electrophoresis of RNA](#)

当然，这些只是《RNA: A Laboratory Manual》中的一小部分。这本关于 RNA 的实验室指南浓缩了 10 年来 RNA 操作方面的各种技术，从最基本的到非常复杂的。这本指南来源于该领域 4 个最著名的实验室，提供了 RNA 研究的策略，详细的操作步骤以及大量的提示和常见问题分析。不过，价格也不菲，精装本的售价达 240 美元。期待影印版能早点上市。

本期的另一篇免费 Protocol 也非常有意思，关注的是鸡胚胎的活体成像。生物学成像技术的快速发展，让人们能更深入地了解胚胎发育。但是对于高等动物来说，它们的蛋不透明，或者是内部发育，这样胚胎所获得的光就有限。尽管目前有各种胚胎培养方法，但是脊椎动物的发育最好在完整的胚胎模式下研究。

美国斯托瓦斯医学研究所 (Stowers Institute for Medical Research) 的 Paul Kulesa 及同事就展示了鸡胚胎的卵内活体成像。他们先在蛋壳上敲一个小洞，然后在附上一层特富龙膜，这种膜能透氧，但不透液体。他们对神经嵴细胞进行荧光标记，这种细胞类似多潜能干细胞，能分化成多种衍生物，并在整个胚胎中大范围移动。通过结合卵内培养和共聚焦显微镜或双光子显微镜观察，胚胎可维持最多 5 天，而神经嵴细胞可在长时间 (36 小时) 内观察。点击下面的标题可浏览卵内活体成像的全过程。(生物通 余亮)

## [In Ovo Live Imaging of Avian Embryos](#)

### [免费索取淋巴细胞分离液的试用装](#)

# llumina 的 BeadXpress 多重分析系统喜获 FDA 510(k)许可

llumina 公司（纳斯达克代码：ILMN）今天宣布，美国食品和药品管理局（FDA）已为该公司的 BeadXpress 系统授予 510(k) 许可，该系统可用于多重遗传分析。根据 FDA 的使用用途指引，由 Illumina 的 BeadXpress Reader 和 VeraScan 软件组成的 BeadXpress 系统，是一种采用 VeraCode 全息微珠技术、可同时检测 DNA 样品中的多个分析目标的体外诊断设备。

“该许可意味着 Illumina 向诊断领域过渡迈出了令人振奋而且重要一步——分子药物在诊断领域有着巨大的潜力，将为疾病的检测和最终的预防及治疗方法带来真正意义上的革新，” Illumina 的总裁及 CEO——Jay Flatley 表示。“它证明了 Illumina 拥有足够的力量，完全能够设计和生产充分满足严格的监管条例需求的、并获得 FDA 批准的体外诊断设备。这将为我们在诊断领域的未来计划打下重要基础。最终，我们的目标是成为转化医学领域的领导者，致力研究那些能利用各种高性能分析推进研究的复杂疾病，这些分析包括基因分型、拷贝数、基因表达、甲基化和蛋白分析。”

Illumina 于 2007 年推出了 BeadXpress 系统以及仅供研究用的试剂盒，用于订制的基因分型、基因表达、甲基化和蛋白分析。从那以后，它就广为全世界的研究、农业、工业和制药机构所采用。利用独特内置数码微珠，VeraCode 技术提供了高质量的数据，广泛的多重分析能力以及分析灵活性。Illumina 在 2009 年 9 月将该系统提交给 FDA 审批。

## [了解 BeadXpress 系统的更多信息！](#)

“510(k)许可为我们众多的临床研究以及商业伙伴开启了广泛的可能性，如今他们能够在经过验证的高性能 BeadXpress 平台上继续开展诊断开发，”负责诊断业务的高级副总裁及总经理 Gregory Heath 表示。其中一个伙伴就是 EraGen

Biosciences 公司，它于 2009 年和 Illumina 达成了一项授权协议，将他们的分析检测转移到 BeadXpress 系统上。“此次许可是推动我们的合作关系向临床市场上迈进的重要一步。” EraGen Biosciences 的总裁及 CEO，Irene Hrusovsky 医学博士认为。

如欲了解更多信息，请访问 [www.illumina.com](http://www.illumina.com)。

## 关于 Illumina

Illumina (<http://www.illumina.com>) 是遗传变异和生物学功能分析方面的完整系统的领先开发商、制造商和营销商。利用我们专利的技术，我们提供了一整套产品和服务，目前服务于测序、基因分型和基因表达市场，我们期望进入分子诊断市场。我们的客户包括顶尖的基因组研究中心、制药公司、科研机构、临床研究组织和生物技术公司。我们的工具为全世界的研究人员提供了开展数十亿个遗传检测所需的性能、通量、成本效益和灵活性，这些遗传检测能够从基因组学和蛋白质组学中的进展中提取出宝贵信息。我们相信，此信息将让研究人员将遗传变异与生物学功能关联起来，从而增强药物开发和临床研究，让疾病更早地检测出，也让病人个体有着更好的药物选择。

关于 BeadXpress (部分功能仅供研究领域应用)

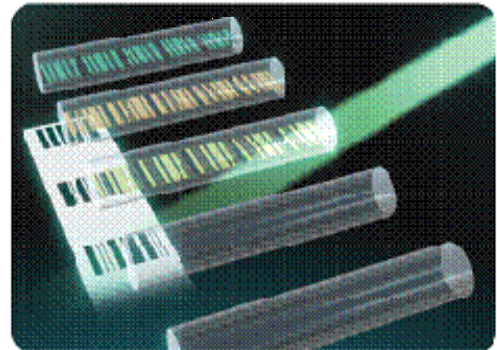
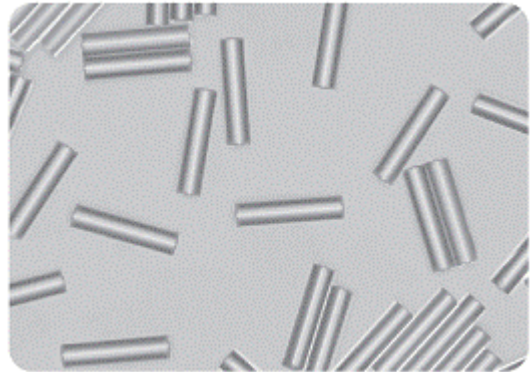
VeraCode 技术针对基因分型、基因表达和蛋白检测中的多重试验进行了数字化革新。通过可订制的追踪功能和前所未有的数据精确度和验证能力，内嵌于每种 VeraCode 微珠类型中的独特的全息码可实现无可比拟的高数据质量。Illumina BeadXpress 检测仪是针对 VeraCode 技术分析生物芯片应用而专门开发的。BeadXpress 检测仪拥有业界最强大的多重反应能力，并以其稳定的多重检测试剂为小规模而高通量的分子生物学实验室提供了最理想的解决方案。



**BeadXpress 检测仪的主要特点:**

- 最强大的多重反应能力: 支持在单个样本中进行单重到数百重的反应
- 检测功能全面: 可在单一平台上实现 DNA、RNA 和蛋白检测等多种应用
- 数据质量优异: 通过严格的代码检测, 实现行业领先的检测密度和灵敏度

- 双色激光系统: 可分析双色检测 (如 Illumina GoldenGate 检测) 和单色检测 (如等位基因特异性引物延伸, ASPE)



VeraCode 技术采用长 240 微米、直径为 28 微米的圆柱形玻璃微珠, 每个微珠都记下了多达 24 位的信息。通过嵌入一定数目的独特重叠全息组合, 创造出数百万各不相同的微珠类型。

# 罗氏和 IBM 欲共同开发纳米孔测序技术

近日，罗氏和 IBM 公司宣布将共同开发基于纳米孔的测序技术，来快速高效地对人类 DNA 进行直接读取和测序。

这项技术是由 IBM 研发部门开发的，称为 DNA Transistor 技术。当 DNA 分子穿过硅芯片上纳米大小的孔时，该技术能破译 DNA 分子，从而实现真正的单分子测序。根据罗氏和 IBM 的说法，与其它现有测序技术或正在开发的技术相比，这项技术在费用、通量、规模和速度上都具有“重大优势”。

根据合作协议，罗氏将资助这项技术的继续开发，并提供其测序子公司-454 Life Sciences 的其它资源和经验。具体的财务条款并未透露。

IBM 获得美国国立人类基因组研究院 (NHGRI) 千人基因组计划的资助，于去年秋天开始研发测序技术。据两家公司称，这项技术将最终改善人类基因组测序的通量，并将全基因组测序费用降低至 100 至 1000 美元。

此次合作将利用 IBM 在微电子学、信息技术以及计算生物学方面的专业知识，并借助罗氏在医学诊断学和基因组测序的经验。

罗氏应用科学部全球总监 Manfred Baier 表示：“对于个性化医疗来说，测序是愈发关键的工具。它为疾病的高效诊断和定向治疗提供了必需的个体遗传信息。这个强大的技术，再加上 IBM 和

罗氏的综合优势，将产生低成本的全基因组测序，我们对此很有信心。”

IBM 研发部计算生物学部门的高级主管 Ajay Royyuru 认为：“所有纳米孔测序技术的挑战在于减慢并控制 DNA 穿过纳米孔的运动。我们正在开发一项技术，以实现这个目标，这样读取器就能准确破译 DNA 序列。”

罗氏在未来基因组技术上的投资是基于目前 454 测序系统的优势，它能在数小时内生成几十万个长的高质量测序片段。目前的测序系统有两种：适合大规模基因组分析的 GS FLX 系统和台式测序的 GS Junior 系统。

根据前两个月公布的试用数据，GS Junior System 的通量为每次运行产生 35 Mb 以上的高质量碱基。平均读长为 400 个碱基，每次运行平均产生 10 万个读数。400 个碱基的准确率为 99%。文库制备仅需半天，测序需要 10 个小时，然后 2 小时处理数据。测序原理与 GS FLX 相似。GS Junior System 将会在今年上市，具体上市时间暂时未知。如果您对这台测序仪感兴趣，请[点击此处留言](#)，罗氏公司的人员将会与您联系。

(生物通 余亮)

# 赛默飞世尔为人类蛋白质组 Atlas 供应肽段

生物通报道，赛默飞世尔科技公司近日宣布，它将为美国系统生物学研究所（ISB）提供一系列新颖的蛋白研究产品，以支持为期两年的人类蛋白质组 MRMAtlas 项目。

MRMAtlas 项目于 2009 年 11 月提出，它旨在生成一个信息数据库，让科学家们能够通过多反应监测（MRM）的质谱技术对人类基因所编码的约 25,000 个蛋白进行定向分析。经过快速精确的质谱 MRM 方法分析验证，实现对人类蛋白质组中几乎所有蛋白的明确鉴定与定量，从而将对普通生物学研究和大规模蛋白质组研究产生积极推动作用。该项目获得美国国家人类基因组研究所提供的 270 万美元以及欧洲研究理事会提供的 270 万欧元（330 万美元）的资助。

这个公共数据库，即 atlas，届时将对全世界的研究人员开放，让他们能够清楚地鉴定和定量大量样品中的人类蛋白。赛默飞世尔的肽段合成工厂将为此项目生产超过 10 万个合成肽段，从而大大提高生物标志物开发的速度，并降低费用。

赛默飞世尔公司负责定制生物高聚物的商务主管 Joel Louette 表示：“通过减少开展分析的时间、精力和费用，数据库将显著增加在生物标志物开发、证实和确认上的研究产量。我们很高兴能在此项目中发挥作用，它将加速研究，并降低与药物开发相关的费用，促进个性化医疗，并支持人类健康监控。”

此项目的领导者分别是系统生物学研究所的蛋白质组学主管，助理教授 Robert Moritz 博士，以及瑞士苏黎世联邦理工学院的 Ruedi Aebersold 教授。他们俩都将使用赛默飞世尔的质谱和合成肽

段来鉴定并记录每种人类蛋白的至少四个水解肽段。

此外，Moritz 博士还将使用数千个定制的 Thermo Scientific HeavyPeptide AQUA 标准品，来测定天然肽段的丰度，并开发出精确的定量 MRM 分析。为此，赛默飞世尔还将编撰一本 HeavyPeptide AQUA 标准品目录，以供其他科学家在未来研究中快速查找它们。

Moritz 博士认为，现在是时候创建一个完整的人类蛋白质组 MRMAtlas。“这无疑将加速一些灵敏可靠的分析开发，用于癌症及其它人类疾病的早期检测、治疗及预后评估。它将为个性化医疗铺平道路。”

总部位于西雅图的美国系统生物学研究所（ISB）是国际知名的、非盈利研究机构，其专注于系统生物学的研究和应用。在 SCImago 研究小组 12 月公布的以科研为中心的组织机构评估报告中，ISB 的科研文章的学术影响力在美国排名第一、世界排名第三。由 Leroy Hood、Alan Aderem 和 Ruedi Aebersold 创建的 ISB 致力于揭开人类生物学神秘的面纱和预测并阻止多种疾病如癌症、糖尿病和艾滋病的发生等。ISB 系统的研究方法整合了生物学、计算科学和技术发展，使得科学家可以同时分析一个生物学体系中的所有因素，而不仅仅是一个基因或蛋白。（生物通 薄荷）

[点击索取赛默飞世尔质谱产品的最新资讯！](#)