

# EBIOTECH

生物通技术周刊

## 2008年度生命科学十大创新产品揭晓

创新产品特辑

2009年2月13日

全文下载

### 【获奖产品】

十大创新产品之SOLiD系统

十大创新产品之图像流式细胞仪

十大创新产品之xCELLigence系统

十大创新产品之Accell siRNA

十大创新产品之Criterion无染料凝胶成像系统

十大创新产品之Synergy 4酶标仪

十大创新产品之膜蛋白表达系统

十大创新产品之蛋白魔术师

十大创新产品之NanoVue分光光度计

十大创新产品之NimbleGen序列捕获芯片

主办：



生物通版权所有 谢绝转载  
广告联系电话:020-87511980

本期责编:余亮 制作:吴春红  
欢迎访问:www.ebiotrade.com

# 十大创新产品之 SOLiD 系统



作为上世纪生命科学领域最重要的技术发明之一，测序技术深刻地改变了我们对生命本质的理解和掌控能力。假如没有测序技术，基因序列就无法确定，酶切、克隆、反转录、cDNA、PCR、SNP、RNAi 等等研究技术也就根本无从谈起，生命科学领域也不会有今日的蓬勃发展。无人不晓的 GenBank；历时 13 年、耗资 3 亿美元、全球合作的人类基因组计划，无不建立在测序的基础上，极大地推动了全球生命科学领域研究的发展。

但是，人类永远不会停下创新的脚步。不断创新，把原本不可能的变为可能，把既慢又费力的工作变为简单快捷，本来就是科技最奇妙、最吸引人的地方。生命科学领域更不例外。

科学家一直在努力寻求测序技术的创新。新一代测序技术的诞生和发展，令 1000 人基因组计划，以及各物种的基因组图谱如雨后春笋般地涌现。历时 13 年耗资 3 亿美元的 HGP 从此成为历史-----完成人类基因组测序，如今只要区区 1 万美元，1 轮反应，1 个实验室，数周时间----新一代测序技术将生命科学带入了测序的新时代。其中 2007 年 10 月美国应用生物系统公司 (ABI) 全球首推、2008 年已经升级到第 3 代的 SOLiD

系统更是其中的表表者。

## 回顾过去----切身体会测序法变迁

上世纪 70 年代自 Sanger 发明双脱氧链末端终止测序法，生命科学研究进入了手工测序时代。新基因不断被测序的喜悦，暂时掩盖了手工测序的繁琐和辛劳，毕竟，能前所之不能啊。长达 66 公分的测序玻板清洁硅化组装、配胶倒胶、同位素标记、分段上样、数小时的垂直板电泳、X 光片压片过夜、显影定影、人工读片、“鬼带”分析....所有工作手工完成，高度技术依赖，必需放射性同位素。那时一个测序高手，条带清晰分明的压片结果，绝对是整个大楼里人人艳羡的目标。

10年后ABI公司推出了世界上第一台自动测序仪,让部分“先富起来”的实验室骄傲地告别了手工劳动、读片和同位素。电泳速度相近的4色荧光染料替代了同位素,4个测序反应在一个条带中就能完成,通过自动计算校正不同荧光染料的偏差,也提高了反应通量。毛细管电泳技术逐渐取代了平板胶电泳侧吸,而且测序的全部操作都实现了自动化,包括自动灌胶、自动进样,自动数据收集分析。测序的通量自然也在不断增加,3700测序仪一天能读取40万个碱基,在13年内完成的第一个人类基因组计划中立下了汗马功劳。

### 13年太长,只争朝夕

罗氏旗下454和illumina先后突破Sanger测序法,推出新一代测序技术的基因分析平台,令测序技术再次成为关注的焦点。ABI随后在2007年10月推出基于新一代测序法的平台——SOLiD。从SOLiD到如今的SOLiD 3,短短一年时间,它上演了一出精彩的“一级方程式赛车”。

SOLiD 全称为 Sequencing by Oligonucleotide Ligation and Detection, 它的独特之处在于以四色荧光标记寡核苷酸进行连续连接合成为基础,取代了传统的聚合酶连接反应,可对单拷贝DNA片段进行大规模扩增和高通量并行测序。这种替代能够明显减少因碱基错配而出现的错误,消除相位不同步的问题,获得更高的保真度。而SOLiD系统的另一秘密武器是采用末端配对分析和双碱基编码技术,在测序过程中对每个碱基判读两遍,从而减少原始数据错误,提供内在的校对功能。这样,双保险确保了SOLiD系统原始碱基数据的准确度大于99.94%,而在15X覆盖率时的准确度可以达到99.999%,是目前新一代基因分析技术中准确度最高的。

高度可扩展性又为SOLiD系统平添了更多魅力。SOLiD系统采用开放玻片式的结构,使用包被DNA样品的微珠来输入基因组信息。这些微

珠添加到检测玻片上,并由系统进行分析。微珠密度并不是一成不变的,系统支持更高密度的微珠富集。开放式玻片形式、微珠富集、以及软件算法的结合,能使平台轻松升级到更高的通量,而无需对基础技术和配置做重大改变。如今的SOLiD 3系统每次运行能产生高达20GB可定位的测序数据。20GB,相当于人类全基因组的约7倍覆盖度!这意味着过去13年的多国联合工作现在一次运行就搞定了。而通量的升高也有望进一步降低基因组测序的费用,成本只需1万美元的人类基因组测序指日可待。

SOLiD系统的可扩展性除了指测序规模,还包括了其功能应用。它不再是一台单纯的测序仪,而是成为功能更全面的基因分析仪。除了测序和重测序,还能进行全基因表达图谱分析、SNP、microRNA、ChIP、甲基化等多种分析。

### 全基因表达图谱分析

芯片大概是目前应用最广泛的从全局角度分析基因表达整体模式的方法。然而,基于杂交技术的微阵列技术只限于已知序列,无法检测新的mRNA;而且杂交技术灵敏度有限,难以检测低丰度的目标(需要更多的样品量),难以检测重复序列;也无法捕捉到目的基因表达水平的微小变化-----而这恰恰是研究在刺激下或环境变化时的生物反应所必需的。

与芯片技术相比,基于测序的高灵敏SOLiD技术可对单个细胞和癌症样品中存在的痕量RNA进行整体的全基因组表达图谱分析,每次运行能定位高达2亿4千万个标签(mRNA的相对表达水平可通过系统产生的序列标签数目来计算),可检测低至每个细胞中10-40pg的总RNA,即使mRNA表达水平很低,SOLiD系统也能够无偏向性地分析样品中存在的已知和未知mRNA,从而定量特定mRNA的差异表达模式。起始样品比微阵列技术要少得多,尤其适用于来源极为有限的生物样品分析,如癌症干细胞---分析其基因和非编码RNA的表达图谱有助于加速发



掘潜在的生物标志物，从而更准确区分不同的疾病类型以及识别疾病易感性，帮助于研究人员更好地了解病变细胞的特性。

### 更多 RNA 研究

除了单细胞基因表达图谱分析，SOLiD 系统在 RNA 方面的其他应用还包括利用 SOLiD Small RNA Expression Kit 来发现和筛选小分子 RNA，实现在无需预先知道序列信息的情况下高通量发现新的 RNA 分子。这个方案有望显著提高研究人员鉴别小分子 RNA 的能力，将过去不可能完成的实验变为可能。目前已发现的 microRNAs 还非常有限，SOLiD 可在不知道目标分子 DNA 序列的情况下进行检测和定量小的 RNA 分子，可将样品制备工作从常规方法的四天缩短为仅需一天，是分析在生物样品中表达的已知和未知 miRNA 及其它小分子 RNAs 的有效工具。利用 SOLiD Whole Transcriptome Kit 还可以探索和鉴定全转录本。SOLiD 无可比拟的高通量和测序数据的高精确性使得可以用短序列读长即可测序整个转录组。了解转录组对有助于解开导致复杂疾病的分子通路的秘密。这一系列应用补充使研究人员能在单个超高通量平台上开展综合的 RNA 研究。

### SNP 分析

尽管绝大多数的人类遗传信息在所有人中都相同，但是研究人员通常更感兴趣的是研究个体之间微小的遗传差异。这种差异包括单碱基变异，以及被称为结构变异的各种较大片段 DNA 序列变异。结构变异包括 DNA 片段的插入、缺失、倒位和易位，结构变异的 DNA 片段范围可从几个碱基对到数百万个碱基对，可能对基因产生重要影响，并导致人类疾病的发生。SOLiD 流程获得的严密的片段范围，使研究人员可以鉴别出很宽范围内的插入和缺失片段，结构重排也能很容易鉴别出来。这个平台的超高通量使研究人员可轻而

易举地获得高度基因组覆盖率的数据，精确鉴定个体基因组中存在的数百万个单碱基多态性 SNP，揭示大量此前未知、具有潜在医学价值的遗传变异，从而促进我们对正常/疾病状态下 DNA 结构变异的了解，以及在更高的分辨率下对结构变异进行深入分析，解释个体之间的易感性差异和对疾病治疗应答的差异，最终实现个性化医疗。

### 甲基化分析

甲基化是自然发生的 DNA 化学修饰的一种。已知抑癌基因的失活与 DNA 序列特定区域的甲基化有关。而去甲基化则可能导致基因组不稳定和表达模式变化。DNA 甲基化区域可能作为基因在癌症过程中的标记。研究人员一直致力研究从正常到癌变过程中甲基化模式如何变化的，原癌基因异常甲基化模式在癌变过程中扮演怎样的角色。SOLiD 系统运行通量非常惊人，很快就可以做多个样本全基因组甲基化模式检测，使得研究人员可以鉴别基因组中对应元件的甲基化状态，从而帮助研究人员检测甲基化模式是否可以作为癌症的生物标识，以及更好了解甲基化在癌变过程中扮演的角色。

著名的 Sanger 研究院和 Broad 研究院正利用 SOLiD 系统来探索人类基因组样品中的遗传变异。包括美国华盛顿大学医学院、加利福尼亚大学 Santa Barbara 分校、哥伦比亚大学、澳洲昆士兰大学、日本东京大学、荷兰 Hubrecht 研究院、北京基因组研究院等等研究单位都先后配置了 SOLiD 系统。

SOLiD 系统这个创新的平台将过去种种梦想都变成了现实。未来，它将不仅改变生命科学，甚至可能改变我们的生活。也许，几年后的出生体检报告就是一份个人基因组图谱，告诉你与生俱来了哪些遗传变异，何时以及如何及时干预。

(生物通 余亮 吴青)

# 十大创新产品之图像流式细胞仪



细胞分析实验中，常用的两种方法为显微成像观测和流式细胞术；但是几乎所有的用户都会为显微成像观测法分析细胞数量太有限、统计学分析非常繁琐以及流式细胞术无法观测细胞形态、结构，无法定位荧光信号到特定部位而烦恼，但是从现在起，您大可不必为此烦恼了，位于美国华盛顿州西雅图的 Amnis 公司生产的 ImageStream 100 很好地解决了这一问题，它将流式多色检测技术和荧光显微镜图像显示技术集中在一个平台上，提供了全新的细胞分析方法。

ImageStream 是一种台式多谱段成像流式细胞仪（Multispectral Imaging Flow Cytometry），能够同时采集 6 个检测通道中的细胞图像。它将流式细胞检测与荧光显微成像结合于一身，既能提供细胞群的统计数据，又可以获得单个细胞的图像，从而提供细胞形态学、细胞结构和亚细胞信号分布的信息。

与传统流式细胞仪很类似，ImageStream 也是由液流系统，光学系统和电子系统等三大部分组成。液流系统将样本细胞悬液和系统鞘液注入流动室中，使细胞在鞘液流的约束下聚焦在液流的中心，逐个流过检测窗口。光学系统中光源照射通过检测窗口的细胞，从而产生光信号。光源

分为两种，其一是用于产生明场细胞图像的卤灯（Brightfield Illuminator），另一种是用于产生荧光细胞图像的激光器。光源照射细胞产生的光信号被具有很大的数值孔径（NA: 0.75）的物镜收集，然后通过光路系统传递到由二向色镜构成的滤光片堆栈（Dichroic Filter Stack），光信号在这里被分成不同波段投射到一个六通道冷 CCD 上，产生一个明场细胞图像，一个暗场细胞图像（Side Scatter, SSC）及四个不同荧光通道的细胞图像。ImageStream 的光路系统能够自动调整焦距，并实时测定细胞运动速度，而其冷 CCD 采用时间延迟积分方式（Time Delay Integration, TDI）进行信号采集，上述这些手段保证了系统采集到的细

胞图像的质量。

ImageStream 系统还配有功能强大的数据分析软件 IDEAS, 可以对每个细胞分析超过 500 种量化参数。这些参数不仅包括细胞整体的散射光和荧光信号强度, 还包括对细胞形态, 细胞结构及亚细胞信号分布的分析。通过在细胞群体中对这些参数进行统计, 分析软件可以生成细胞群体的散点图和柱状图, 而这些统计数据与细胞图像是完全整合的, 比如点击散点图上的点, 就可以直观的看到这个点代表的细胞的图像。另外, 使用者还能够根据自身研究的特殊需要, 进行自定义参数的设定, 进行更深入的分析。

ImageStream 图像流式细胞仪的应用范围十分广泛, 除了能够完成传统流式细胞仪能够完成的工作, 它还能进行亚细胞定位、细胞周期、高通量 FISH 分析、分子转运示踪、细胞内吞等诸多传统流式细胞仪不能完成的研究工作。

### Image Stream 系统的技术特点

#### 1. 分析细胞的全新方法——合二为一

Image Stream 系统将流式多色检测技术和荧光显微镜图像显示技术集中在一个平台上, 提供了全新的细胞分析方法。无须为了得到细胞群统计学资料而损失丰富的形态信息, 也无须为了获得细胞细节而损失统计学功能。现在你完全可以将显微镜下得到的视觉信息与流式细胞仪下得到的数量信息完美结合, 从而得到多参数的信息。

#### 2. 尖端成像技术

用一个明视野光源 (488nm 激光) 和另外两个激光照射生成组合图像, 组合图像能被分解成 6 组组成图像, 由专用的 CCD 相机运用 Time Delay Integration 技术捕获。一个细胞能得到一个明视野, 一个暗视野和多达 4 个荧光图像, 而且每个图像可以提供超过 35 种形态学和荧光信号特征, 系统的观测敏感性和传统流式细胞仪相当或超过传统流式细胞仪, 它的图像处理能力可以和荧光显微镜相比 (见封三右中图)。

### 3. 统计学上的视觉分析

将显微视觉图像融合进流式分析可以带来更深刻、可靠、精确的结果, 能够在细胞亚群中查看任何单个细胞的特征; 同时, 将流式仪统计学意义上的数量分析加入显微成像, 避免了数量、数据的局限性, 因此, 在稀有事件的检测上有很强的优势。

### 4. 专为生物学家设计的强大的图像分析软件

IDEAS 分析软件包能够提供功能强大灵活实用的数据分析。IDEAS 软件包能分析每个细胞总共超过 200 个的特征, 包括多形态测量和荧光强度测量, 用于定义和描述细胞群特征。使用者还可以快速简单的创建新的特征, 为使用者提供大量的工具来确定相关细胞亚群。输出的图像数据和图表输出完全一体化, 散点图上的每个点都和相关的细胞图形直接相连。IDEAS 分析软件非常易于学习和使用, 是生物学家为生物学家专门编写, 大多数操作都是直观的, 不需要图像分析软件或者流式方面的使用专家。

### 5. 一台仪器, 多重应用

将显微成像的技术与流式技术联合起来, ImageStream 系统在如下很多应用领域都大有作为: 细胞信号转导/通路分析、细胞凋亡分析、分子共定位分析、细胞间相互作用、分子胞内转运分析、基因表达分析、细胞形态量化分析、细胞分类、悬浮荧光原位杂交分析等。

### Image Stream 系统的新颖应用

#### 1. NF- $\kappa$ B 转位

NF- $\kappa$ B 作为一种广泛存在的转录因子, 被激活由胞浆转入胞核, 从而参与炎症反应、免疫反应、细胞凋亡、肿瘤发生等。因此, 在实验过程中, 可以将细胞核和 NF- $\kappa$ B 分别用 7-AAD 和 FITC 染色, 通过 ImageStream 系统观察最后的融合图像的颜色来确定 NF- $\kappa$ B 是否发生转位。

#### 2. T 细胞——抗原呈递细胞的相互作用

细胞在其表面以能被 T 细胞受体 (TcR) 特异性识别的方式表达抗原的过程称为抗原呈递。APC 的抗原呈递作用是一个涉及抗原摄取、处理与呈递的复杂过程。因此在 T 细胞与 APC 作用的过程中, 用 FITCHLA 标记 T 细胞, PE-CD86 标记抗原呈递细胞, 通过观察交叉区域的荧光以及细胞形态来分辨两者之间是否发生结合。

### 3. 细胞有丝分裂

常规的细胞有丝分裂的观察都是在显微镜下进行, 通过观察细胞核内染色体的形态来判定细胞分裂处于哪一个时期: 间期、前期、中期、后期、末期; 这种方法虽然有效, 但是在观察数量上却具有很大的局限性。现在可以将细胞膜标记一种荧光 (如 AF488-HLA), 而将染色体标记为另外一种荧光 DRAQ5, 通过 ImageStream 流式

细胞显微成像仪大量观察细胞形态以及通过染色体颜色来确定细胞处于有丝分裂哪一个时期。

### 4. 细胞表面标记分子共定位

在细胞表面分子共定位中, 将一个细胞中膜分子 C3b 与另一个细胞中膜分子 CD20 分别用 PE、AF48 两种不同的荧光素标记, 以两者的荧光区域和荧光强度点重叠判断细胞表面标记分子共定位, 克服了普通流式细胞仪无法监测细胞形态、无法定位荧光信号缺点。

### 5. 胞内分子转运

### 6. 细胞凋亡

更多的应用范例请看《[流式细胞术的最新突破](#)》一文。



# 十大创新产品之 xCELLigence 系统



目前大部分细胞分析的形式都是终端的，仅仅给实验提供了一个最终结果，而且经常需要标记和破坏细胞。但因为细胞是活体，生物和细胞进程是动态而非静态的，目前的分析形式就有了很大的局限。因此，为了更充分的了解和测量生物和细胞进程，应当使用一种非主观的系统，来对胞内应对某种变化比如药物处理或生长因子刺激时产生的动态变化，提供动态的数据。

xCELLigence 系统应运而生。它是一种非标记的实时细胞分析系统，利用生物电阻读数来非主观性地实时量化细胞状态。细胞接种在 96 微孔板中，在每个孔的底部有嵌入的微电子感应器。使用低电压（20mV）交流电在孔内产生一个离子环境，能反映出孔内的细胞数量、细胞形态和细胞粘附的强度。该系统最初是由美国 ACEA 生物科学公司发明，并由罗氏和 ACEA 共同开发。目前罗氏享有 xCELLigence 系统的独家销售权。

在细胞分析中细胞传感器阻抗技术的应用具有不少优势。第一个也是最重要的，细胞传感器阻抗为整个实验包括细胞粘附、增殖和融合提供了非主观的细胞监控。实时的监控为同一个实验

中和不同实验间的细胞提供了出色的质量控制。

另外，因为有了实时、连续显示的数据，就可以更自信地操作和处理细胞，而不是假定细胞处于合适的处理阶段。有了阻抗读数以及实时获取和显示的数据的特性，每一步处理的最终结果都可以通过机理来预测。最后，因为读数是主观的，传统的终端分析仍然可以与阻抗读数结合起来，来决定进行传统终端分析的最佳时间点。

目前已经开发了一系列基于 xCELLigence 系统的细胞分析，包括：

- 胞内质量控制
- 细胞增殖



- 化合物、细胞和病毒介导的细胞毒性
- 屏障功能
- 细胞粘附和扩展
- 受体介导的信号通路

### 动态监测 NK 细胞杀伤活性

传统的测量 NK 细胞杀伤活性的方法是放射性的释放分析。用放射性材料（如  $^{51}\text{Cr}$ ）标记靶细胞，然后加入效应细胞，比如 NK 细胞。NK 细胞对靶细胞的杀伤活性就通过靶细胞溶解后释放出的放射性来进行分析。然而，这种方法很繁琐，不仅因为它需要用到同位素，而且背景很高，因为标记常常会弥漫在靶细胞之外。

xCELLigence 系统则提供了一种全新的 NK 细胞杀伤活性的非标记体外研究，使用更加简单，数据则更为可靠。研究人员将这种新技术用于在 9 种靶细胞系中动态及定量监测 NK 细胞的杀伤活性，其中包括在研究领域广泛应用的人肿瘤细胞系 MCF7、Hela 等。靶细胞接种在 E-Plate 微孔板中，系统每 60 分钟动态监测细胞的生长直到细胞进入对数生长期。然后按照不同的 E/T 比（效应细胞与靶细胞的比例）将鼠的效应 NK 细胞直接加到每个孔中，这样就可以动态监测 NK 细胞的杀伤活性了。另外，这项技术还成功用于抗体依赖的细胞毒性（ADCC）分析，来动态和定量监测抗体介导的癌细胞杀伤活性。

这些实验展示了 xCELLigence 系统能用于评估人和鼠的 NK 细胞杀伤活性。这种活性的定量、动态测量不需要任何标记步骤或试剂。而且，xCELLigence 系统得到的数据清楚地显示，在加入 mNK 细胞 12 小时后，杀伤活性能达到 70%。这种最大的杀伤活性出现在传统的孵育时间之后，很容易被现在的终端分析法所错过。因此，xCELLigence 系统不仅提供了非标记的检测，更

重要的是，它还通过动态监测细胞溶解的整个过程而更准确地评估杀伤活性。

### 为 GPCR 监测另辟蹊径

目前在自然和生理条件下测量内源 GPCR 的功能激活的研究很少。因此，xCELLigence 系统对于 GPCR 细胞水平分析的重要贡献就分为几部分。首先，无需在之前或之后标记细胞，节省了费用和时间。因为读数是实时而无损伤的，所以不需要裂解细胞。因此，同样的细胞可以在同一个孔中刺激多次来评估脱敏作用或与其他受体类型的干扰。检测方法不会受到内源化合物的影响，避免了在大部分光学分析中遇到的主要问题。基于这种实时技术，分析提供了整个分析阶段的全面数据，让研究者对配体添加的时机做出有依据的决定。此外，实时动态的读数还提供了关于信号通路激活的简明而有价值的信息。

另外，除了与 G 蛋白的 Gq 亚族偶联的组胺受体，细胞表达的与 Gs 和 Gi 家族偶联的其他受体也可以用 xCELLigence 系统来监控。更重要的是，表达内源 GPCR 的细胞包括原代细胞也可以利用这项技术，而不需要内源 GPCR 的过表达或改造细胞去表达异源的 G 蛋白。这样就可以评估生理上适当的细胞类型中的受体。

### 细胞粘附与扩展

细胞粘附是多个生理学和病理学过程的重要组成部分，例如伤口愈合、炎症、血管生成和癌症。细胞相互作用以及粘附在不同的生物表面是一个动态的综合的过程，需要特殊细胞表面受体、结构蛋白、信号蛋白和细胞内的细胞骨架的参与。为了演示 xCELLigence 系统在动态监测细胞粘附上的作用，微孔板的孔中包被了递增的胞外基质蛋白，纤连蛋白。另一些孔中包被了牛血清白蛋白（BSA）作为对照。无血清的胰酶消化过的 COS-7 细胞被加入这些包被过的孔中，细胞粘附

和扩展的过程就被 **xCELLigence** 系统连续监测着。递增的纤连蛋白使细胞数增加，而 **BSA** 则不支持细胞的粘附与扩展。**xCELLigence** 系统可以用来评估细胞骨架药物、酶和信号蛋白抑制剂、生理上干扰或阻碍细胞粘附与扩展或干扰下游信号通路的药剂的功效。

总的来说，以上提供了一些关键的重要的观察数据，展示了 **xCELLigence** 系统在定量的、非

主观的、实时细胞分析上的作用。非标记技术、非主观的读数以及动力学的结合最大程度地获得高信息量和高内涵的数据，让使用者们能对他们的分析以及分析数据的质量做出很好的判断。

**xCELLigence** 系统提供的时间分辨可以作为一个必要的工具来更好的完善分子实验譬如基因表达图谱，我们期待这些技术在未来的整合。

# 十大创新产品之 Accell siRNA



在目前的 RNAi 研究中，脂质体转染试剂的应用甚为广泛。但问题接踵而来，脂质体对细胞有或多或少毒性，而导致部分细胞死亡，进而影响我们对实验结果的科学判断。更重要的是，适合运用脂质体进行转染的细胞种类有限，有些细胞可不吃脂质体那一套，那么研究者又要动用病毒载体等大阵势，银子和时间花了不少，效果还难说。为了解决这些问题，赛默飞世尔旗下的 Dharmacon 公司推出了革命性的 Accell siRNA。

Accell siRNA 与普通的 siRNA 有什么不同？它采用特殊的化学修饰，确保不用任何传统转染介质（比如转染试剂、病毒载体和电转等）就能被直接吸收进入细胞，首次克服了由于细胞转染问题所带来的基因沉默效率不佳的障碍。自此，你再也不用担心脂质体的毒性会干扰实验效果，或对转染的步骤进行反反复复的优化。

至于是什么样的化学修饰，我们当然无从得知。但这种新颖的化学修饰能确保 siRNA 被细胞高效吸收，包括一些传统意义上难转染的细胞，如悬浮细胞、干细胞、神经元细胞等。目前经 Dharmacon 验证的细胞种类已经超过了 50 种，

而且这个队伍还在不断扩充。

我想大家更关心的一定是干扰效果，没有转染试剂的协助，干扰效果会不会也打折扣呢？其实，在常规的 RNAi 实验操作中，脂质体转染容易导致细胞发生一系列的毒性和炎症反应，从而造成一些假阳性和假阴性的结果，让研究者和分析结果时产生误判或错判，这一直是困扰 RNAi 研究者的一大难题。现在有了 Accell siRNA，问题就迎刃而解了。Dharmacon 的研发人员进行了多种细胞密度的沉默实验，结果证实 Accell siRNA 对细胞无毒副效应。他们还利用芯片来检测了 9 种炎症反应因子，证明 Accell siRNA 不会

引发炎症反应。而全基因组芯片检测则表明 Accell siRNA 可以消除由脂质体引发的脱靶效应。现在，你放心吧。实验结果可以不受由于使用转染试剂所引发的诸如毒性和炎症反应等细胞应答的影响，变得更加科学可靠。

同样，实验的操作步骤也更为简单。Accell siRNA 只需简单地和专用培养基混合，然后添加到培养细胞即可完成整个转染操作。这是目前最简单的一种操作，只需两步，既高效经济又方便省时，即使是初次进行 RNAi 实验的操作者也能迅速得到完美可靠的实验数据。Accell siRNA 与 Accell 专用培养基混合后 4℃ 可稳定保存 9 个月之

久。

早前，Dharmacon 凭借卓越的 SMARTselection® 技术完成了全球首个全基因组 siRNA 文库的构建，并结合独步全球的 SMARTpool 技术在成千上万的基因沉默中验证着它们的成功性。设计并合成针对同一靶基因四个不同靶点的 siRNA 序列，按照特定比例混合即可成为高效特异沉默靶基因的 RNAi 试剂。Accell siRNA 同样结合这一久经考验并确保成功的 SMARTpool® 技术，提供给研究者特异性沉默靶基因的强有力的工具。

一个全新的 RNAi 世界正在呈现----



# 十大创新产品之 Criterion 无染料 凝胶成像系统



是不是已经厌倦了甲醇那刺鼻的气味，还有考马斯蓝那一旦沾上就怎么也洗不掉的蓝色？最最恼人的是，多么美好的青春岁月却都花在染色和脱色上，脱不开身，连讲座都没办法去听。时间还要控制好，太短则染色不够，太长又怕脱色过了头。现在，你终于有机会和这一切说拜拜了。Bio-Rad 公司在今年 10 月份推出了 Criterion Stain Free gel imaging system，完全不需要染料，就能得到蛋白电泳的图像，实现蛋白的检测和定量。

你的第一反应肯定是：why？它的原理是什么？Criterion Stain Free 技术源于 2002 年发表在《Analytical Biochemistry》上的一篇文章。文中指出聚丙烯酰胺中的蛋白可以进行快速检测。方法是将蛋白胶浸泡在三氯乙酸或氯仿中，然后通过紫外光照射。在三氯化物存在时，紫外光会驱使色氨酸发生反应，产物会发出可见区内的光，从而实现蛋白条带在胶上的定位。Bio-Rad 公司利用了这项技术，并进行了一定的改进，开发出这套无染料凝胶成像系统。

Criterion Stain Free gel imaging system 的主要部件有两个：Criterion 预制胶，Criterion 无

染料成像仪。当然，为了分析结果，你还需要电脑和软件。Criterion 预制胶与普通的预制胶可不同，估计是含有三氯化物，所以不能拿平时用的预制胶来代替。样品制备及电泳步骤与普通的电泳一样。电泳之后，取出凝胶，放置在 Criterion 无染料成像仪中。分离的蛋白通过 UV 照射而激活，产生荧光，从而被 CCD 照相机捕获。2.5-5 分钟后，蛋白的图像就出来了，软件还会根据蛋白 Marker，自动估算每个蛋白条带的分子量和数量，超级省心。

你看，完全用不着染料，也不需要等待，电泳完几分钟图像就出来了。现在体会到科学技术

是第一生产力了吧。生物通总结了 **Criterion Stain Free gel imaging system** 的特点，可以用一个单词概括——FROGS，这可不是青蛙哦。

### **F (Fast)——快速**

这个自不必说，与一般的考马斯蓝染色相比，起码省了两个多小时。平常染色 1 小时，脱色半小时，还要洗啊、拍照、分析，怎么也得 2 个多小时吧。现在可好，5 分钟就搞定了，连分析都替你包办了，直接出来一张分析报告，包括凝胶图像、分子量和纯度分析。而且系统中用的是预制胶，最烦人的配胶、等胶的时间也省了，即开即用。在快毕业或急着发文章的时候，这一点尤其重要。

### **R (Reproducible)——重复性好**

有时候染色、脱色的时间不同，产生的胶图也会相去甚远。这里多一条带，那里少一条带，没办法进行比较。**Criterion** 就不同，分析标准化，数据之间容易进行比较。另外一点还是要归功于预制胶。预制胶虽然贵点，可还是贵的有道理。毕竟是工业化生产的，跟我们手工配制的就是不一样，而且有时候试剂放太久了，配出来的胶其实就是不合格的，结果当然不会漂亮。

### **O (One-touch)——一键式操作**

**Criterion** 无染料成像仪长得有点像电脑主

机，上面有一个大大的按钮，就像开机键一样。一摁，就开始自动的蛋白照相和数据分析，非常方便。而且软件通过与蛋白 **Marker** 的比对，获得的分析结果可比我们目测和估算准确多了。

### **G (Green)——环保**

整个过程中，你再也无需和有毒的试剂如丙烯酰胺、甲醇等打交道，也不会产生有机污染物，更加环保。现在不都提倡这个嘛。大街上每个人都背着环保袋，上面写着绿色生活什么的。

### **S (Sensitive)——灵敏**

我想大家最关心的还是灵敏度。如果灵敏度太低，再简便省时也是白搭。事实证明，**Criterion Stain Free system** 的灵敏度与考马斯蓝染料相同或更高。而通过对一系列蛋白标准品进行 LOD（检测极限）和 LOQ（定量极限）分析，两者的数据也是相当，具体的分析步骤和结果请查看 **Bio-Rad** 公司的技术札记（**Bulletin\_5782**）。

看到这里，总算明白 **FROGS** 的含义了吧。从 2 小时到 2.5 分钟，**Criterion Stain Free** 系统彻底颠覆了传统的蛋白凝胶分析流程，让我们更轻松地获得更准确的结果。这也就是它入选生物通“2008 生命科学十大创新产品评选”的最主要原因。

（生物通 余亮）

# 十大创新产品之 Synergy 4 酶标仪



有人说高通量的药物筛选是一场赌博，从成千上万甚至上亿的潜在复合物中去筛选药物作用的特异性靶点，而在这么多的化合物中，真正与靶点发生阳性作用的可能只有一种或几种。为了增加高通量筛选的阳性率，研究手段不断更新，将高通量筛选推到了极限。仪器的应用，软件的推出都更快更灵活。检测的仪器和技术，比如酶标仪也同时处于这种快速发展的状态，为有效的高通量药物筛选提供了更好的准确性和灵敏度。

Synergy™4 多功能酶标仪是 BioTek 最新推出的旗舰产品。它是中心实验室、检测实验室或高通量筛选实验室的首选仪器。Synergy™4 采用 Hybrid Technology™ 技术以及三个独立光源，可以根据各种实验的需求选择最佳的检测模式。

Synergy™ 4 具有独特的模块化设计，客户可以选择所有的检测模块，也可以根据经费预算选择最需要的检测模块，并在经费充足时对这些模块进行升级。其应用涉及到荧光强度、时间分辨荧光、荧光偏振、紫外可见吸收光检测以及辉光或闪光分析。另外配备有双注射器，还具有温度控制功能、震荡功能，以及强大的数据分析软件。

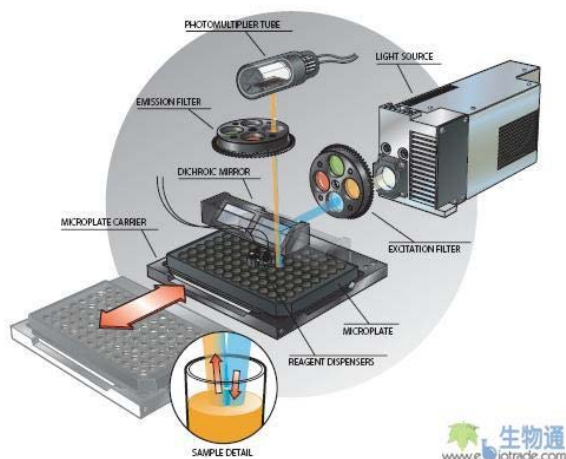
使用了 Hybrid Technology™ 技术的 Synergy™4 可以最广泛地进行基于各种微孔板的检测，其光学设计将基于单色器的荧光检测光路和基于滤光片的检测光路整合于一体，是目前





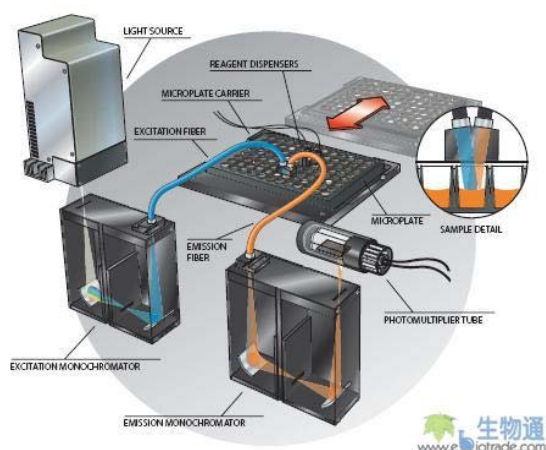
第一款针对任何荧光检测均无需妥协的多功能酶标仪。基于滤光片的荧光检测系统可以进行高灵敏度、快速检测；基于单色器的荧光检测光路可以进行光谱扫描。

### 高性能 基于滤光片的荧光检测光路系统



基于滤光片和二向色镜的光路系统具有较强的透光率，可传递更多的光能量，提供更好的信噪比，在大多数荧光检测过程中具有明显优越性，如荧光偏振检测，TR-FRET 检测（如 Cisbio 的 HTRF®检测）或 AlphaScreen 检测。

### 灵活 基于四光栅单色器的荧光检测光路系统



统

Synergy 4 在样品的激发和检测过程中各采用两个光栅，保证了光谱扫描的良好光特异性，可以实现以 1nm 波长递进的荧光光谱扫描。

[点击获取Synergy 4 多功能酶标仪的最新资料](#)

### 应用范围

### 蛋白质组学研究

- 蛋白与蛋白相互作用研究
- 酶动力学检测（乙酰胆碱酯酶、乳酸脱氢酶等）

- 酶活性相关分析（激酶、蛋白酶等）

- 结构研究（如糖类、蛋白、细胞膜结构等）

### 功能基因组学研究

- 核酸、蛋白质的光吸收定量和荧光定量
- 基因表达调控研究（如荧光素酶、GFP 等报告基因系统，核酸-蛋白相互作用）
- 信号转导通路研究（如受体-配基相互作用、蛋白质-蛋白质相互作用，离子通道研究等）

- 基因分型及突变检测

### 药物研究和筛选

- GPCR、激酶、核受体相关药物研究
- CYP450 代谢途径
- 药物耐受途径研究
- 药物毒性评估

### 细胞学研究

- 细胞浓度及细菌生长密度测定
- 细胞增殖、细胞毒理
- 细胞吸附、细胞渗透、细胞迁移
- 细胞凋亡、细胞转染研究

### 分子检测

- 动植物检验检疫、食品资源评价（如各种病原体、微生物、激素、蛋白抑制因子）
- 临床检测、血清学分析
- 成分测定（如内毒素、NADH 测定等）



# 十大创新产品之膜蛋白表达系统



膜蛋白在整个蛋白质组中大约占了三成，且在细胞间接触、表面识别、信号转导、酶活性和运输方面都扮演着重要的角色。由于它们功能多样，也就成为理想的药物靶点。然而，膜蛋白的生化和结构研究一直都很缓慢，远远落后于可溶蛋白，这是由于膜蛋白的过表达对细胞来说可能是毒性的，或者是表达中形成包涵体，蛋白产量不高，而反反复复的优化又相当耗费时间。缺乏理想的实验手段像一座屏障拦住了许多研究者。

幸亏技术总在进步，创新的产品也不断涌现。Invitrogen 在 2008 年推出的 MembraneMax™ 蛋白表达试剂盒，能帮助你克服以上的挑战，得到高产量可溶性的膜蛋白。它的秘密武器就在于其中专利的 MembraneMax™ 试剂。

MembraneMax™ 试剂（图 1 左上）与细胞膜有点类似，是优化的脂-蛋白配方，包含纳米脂蛋白颗粒（nanolipoprotein particles, NLPs）。NLPs 是圆盘形的颗粒，直径约为 10nm，外环是

一种专利配方的支架蛋白，中间是脂双层。它提供了与细胞内相似的环境，帮助膜蛋白正确折叠（图 1 右下 膜蛋白嵌在其中），避免了蛋白聚集，同时也省去了反复优化的繁琐步骤。与 Invitrogen 的 Expressway 体外表达系统结合，MembraneMax™ 试剂就能生产出微克至毫克级的可溶膜蛋白。在蛋白合成结束之后，膜蛋白可以从脂双层的任一侧取出。



图 1 MembraneMax™试剂

高产量 Invitrogen 利用 MembraneMax™蛋白表达试剂盒试验了许多种不同大小（8-51kDa）和复杂度（2-7 个跨膜结构域）的膜蛋白表达，如血型糖蛋白、细菌视紫红质等，发现大部分蛋白产量都大于 0.1mg/ml（表 1），这对于很多下游应用来说都是足够的。

表 1 MembraneMax 系统实现的高产量

膜蛋白	GenBank Accession Number	产量 (mg/ml)
Glycophorin	NM_002102.2	0.41
Bacteriorhodopsin	J02755.1	0.33
CRHR1	NM_004382	0.30
MGST2	NM_002413.3	0.30
MGST2	NM_004528.2	0.30
Epiregulin	NM_001432.1	0.30
b2 adrenergic receptor	NM_000024.3	0.30
CKLF	NM_81640.1	0.30
UNQ1887	BC025781.1	0.30

蛋白可溶性增强 蛋白表达中最常见的问题就是重组蛋白可溶性低，经常以包涵体形式出现，对于膜蛋白来说尤其如此，因为它拥有多个亲水和疏水结构域以及复杂的折叠元件。MembraneMax™试剂则提供了一个更好的环境，帮助膜蛋白正确折叠。

操作简便 将编码膜蛋白的基因克隆到 T7 大肠杆菌表达载体上，然后将载体与大肠杆菌提取物、MembraneMax™试剂混合，孵育 2 小时，就可以进行纯化了。一天之内你就能得到毫克级的可溶膜蛋白了。操作非常简单，因此很容易升级到多个样品的高通量表达筛选或某个膜蛋白的大规模生产。试剂盒中包含了表达所需的所有组分和对照载体，不过不包含表达载体和检测用的抗体，以及纯化试剂，需要单独订购。

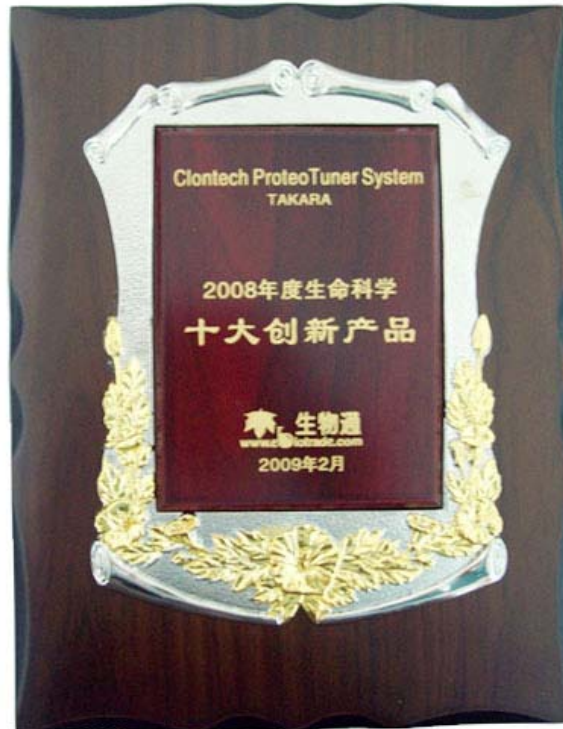
MembraneMax™试剂有两种形式：native MembraneMax 和 His-tagged MembraneMax。His-tagged MembraneMax™试剂包含 His 标签，因此你无需在膜蛋白上加标签，都可以很轻松地进行纯化。而如果你的膜蛋白本身已经带有了 His 标签，就不能用这种了，要用 native MembraneMax™。

MembraneMax™蛋白表达试剂盒的优势：

- 可溶性和单分散膜蛋白的生产
- 通过无细胞表达系统得到微克至毫克级的膜蛋白
- 天然蛋白和有标签的蛋白都可以很方便地纯化和富集
- 表达有毒性的膜蛋白
- 膜蛋白的合成反应简单，很容易扩展到高通量应用

（生物通 余亮）

# 十大创新产品之蛋白魔术师



探索蛋白功能是很多人的研究方向。蛋白过表达是最经典的方法，不过蛋白的表达量可不是由我们说了算。你可能也想过自己随心所欲控制蛋白的表达量，不过无计可施。现在终于梦想成真了。Clontech 公司革新的 ProteoTuner 系统就像一个魔术师，表演着“大变蛋白”的魔术。

ProteoTuner 系统是由斯坦福大学的 Thomas Wandless 博士和他的同事开发的。2006 年 Wandless 博士在 Cell 杂志上发表题为《A rapid, reversible, and tunable method to regulate protein function in living cells using synthetic small molecules.》的文章。几天之内，他就收到超过五十个来自世界各地的研究团队的来信请求分享这组试剂。这项技术也受到了全世界的关注，很多公司希望将它商业化。最终，表达巨头 Clontech 公司获得了专利授权。

ProteoTuner 系统让研究人员能利用小分子调控细胞内任何目的蛋白的表达水平，比 RNAi 更快更准。这项技术已经成功应用于多个物种和应用中，并在 Cell、Nature Method、JBC 上发

表了多篇文章。

## 简单但行之有效的技术

ProteoTuner 系统有两个主要元件来控制目的细胞的表达水平（见图 1）：

**12 kDa 的破坏稳定结构域（destabilizing domain, DD）** 当它与目的蛋白融合时，就成为蛋白酶体降解的目标，从而破坏蛋白的稳定。载体上 DD 编码序列位于多克隆位点（MCS）的上游。

**膜通透性的小分子配体 Shield1** 它的分子量很小，只有 750 Da。它能保护 DD 融合蛋白免受降解，使融合蛋白在细胞内累积。稳定作用只

需 15-30 分钟即可完成，不过为保险起见，最好还是做个时间进程实验，来评估你的目的蛋白的稳定速率。**Shield1** 的浓度可以根据目的蛋白量进行调节。**Shield1** 也可以从细胞中洗脱出来，再次破坏细胞的稳定。这个过程是可逆的，而且可以反复操作很多次。

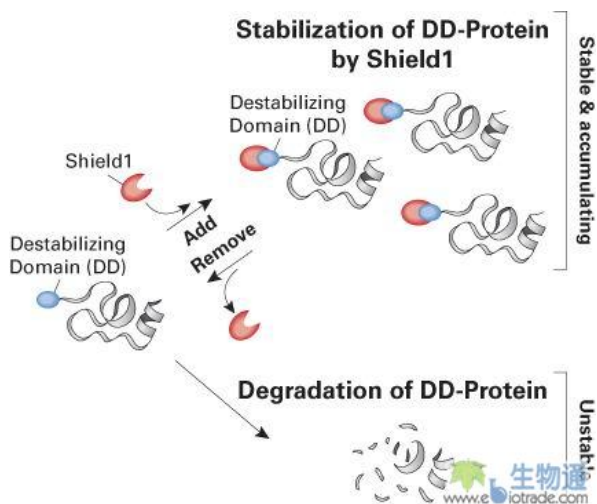


图 1 定向可逆的蛋白稳定

### 快速且可逆的步骤

一旦你的细胞被转染/感染，ProteoTuner 的操作步骤非常简单快捷。为了维持目的蛋白的稳定，向细胞培养基中加入 **Shield1** 稳定配体，同时在另一份中不加入作为阴性对照。加入的 **Shield1** 能保护你的 DD 标签蛋白不被蛋白酶体降解，在细胞内迅速积累。

相反地，为了降解你的目的蛋白，就将细胞转移至不含 **Shield1** 的培养基中。没有了 **Shield1** 的保护，目的细胞就迅速降解。同时，在另一份细胞持续加入 **Shield1** 作为阳性对照。

### 形式多样

ProteoTuner 系统有多个版本可供挑选，包括质粒、反转录病毒和慢病毒，你可以根据细胞

系来自自由选择。另外，还有多种抗性标记，有/无荧光，详见下表。

表 1 各种形式的 ProteoTuner 系统

系统	传统的质粒导入	病毒导入	抗性	荧光蛋白
ProteoTuner <sup>TM</sup> System	是	否	G418	无
ProteoTuner <sup>TM</sup> IRES2 System	是	否	G418	(IRES2) AcGFP1
Retro-X <sup>TM</sup> ProteoTuner <sup>TM</sup> System	是	反转录病毒	(IRES) 嘌呤霉素	无
Retro-X <sup>TM</sup> ProteoTuner <sup>TM</sup> IRES System	是	反转录病毒	无	(IRES) ZsGreen 1
Lenti-X <sup>TM</sup> ProteoTuner <sup>TM</sup> System	是	慢病毒	(IRES) 嘌呤霉素	无
Lenti-X <sup>TM</sup> ProteoTuner <sup>TM</sup> Green System	是	慢病毒	无	(IRES) ZsGreen 1

最近，Clontech 公司还在此基础上再开发了 ProteoTuner Quantitation System，不仅能调控目的蛋白，还能轻松地定量。除了 ProteoTuner 系统，其中另外一项新技术是 ProLabel 技术。它利用了酶片断互补分析，将一个有功能的报告蛋白分成两个无功能的片断：小的 6 kDa，称为 ProLabel 标签，大的则称为酶受体。这两个片断重组后会重新形成有活性的酶，来切割化学发光的底物。产生的信号强度直接与样品中的蛋白量成正比。

有了这些全新的产品，调控和定量蛋白都不再是难题啦。

(生物通 余亮)



# 十大创新产品之 NanoVue 分光光度计



你还记得比尔定律吗？恐怕多半的人会摇头。其实我也记不清了，以下解释来自百度百科：当一束平行单色光垂直通过某一均匀非散射的吸光物质时，其吸光度  $A$  与吸光物质的浓度  $c$  及吸收层厚度  $b$  成正比。比尔定律是分光光度计的基础，不过就算不了解也没关系。现在的分光光度计已经足够简单易用，人人都能轻易玩转。例如这次跻身十大创新产品之列的 NanoVue 分光光度计，就以其灵活易用而深入人心。

通用电气医疗集团在 2008 年推出的 NanoVue 分光光度计，虽然没有“惊天地、泣鬼神”的突破，但在几个关键步骤的改善也让用户受益匪浅。



很久之前测核酸浓度，必须用上石英杯。老师每次都提醒说石英杯非常贵，大家一定要小心。于是每次拿着石英杯都开始手抖，唯恐打破了这个贵重的杯子，要赔上一年的生活费。而且每次使用前后，都要洗涤三次，甚是麻烦。如果样品多，光是洗涤就要耗费大量的时间。之后有些荧光分光光度计开始使用一次性的比色皿（或小管）来测 OD 值，不但省却了洗涤的工夫，还避免了交叉污染，听起来还不错，但仍然需要掏钱来买这些耗材。现在有了 NanoVue，你连这个钱都可以省了，直接把样品放在点样表面就行。NanoVue 专利设计的点样表面，坚固而且光滑，

测量完可直接擦去，不会有任何样品残留在点样面上，有效避免了多个样品间的交叉污染。更关键的一点是，样品还能回收。如果你的样品相当珍贵，那你可以在测完之后将它回收，保证一点也不浪费。

此外，由于核酸样品的体积较小，即使使用昂贵的微量石英杯（容积在几十微升左右），也往往需要对原始样品进行稀释，这样就有可能带来实验误差。对于一些稀有的样品来说，稀释更意味着测量后无法回收，同样也会对后续研究带来更高成本。而 NanoVue 检测样品的最小体积仅为 0.5 ul，无需稀释，且测完能够回收。

NanoVue 通过独特的光路设计，使得样品检测能够在 5 秒钟之内完成，而且 NanoVue 具备即开即用功能，不像许多分光光度计，开机还需要预热好久。现在，你再也不会觉得测浓度是一件麻烦事了吧。很多操作之前，如酶切连接，都可以测测，比电泳可省时省力多了，还更准确呢。

除了操作上的便利之外，我们更关心测量的准确性。NanoVue 延续了 GE Healthcare 的 Ultrospec 和 GeneQuant 出众的检测性能。190-1100nm 的宽范围连续波长设计较市场上同类仪器宽了一倍左右，让核酸、蛋白样品和 Cydyne 荧光染料标记物的浓度都能轻松测定。NanoVue 的设计上还内置了很多功能，方便使用者的工作。

比如，仪器内置寡核苷酸引物的分析方法，只要键入 66 碱基以下的寡核苷酸序列即可计算获得转换因子 (ug/ml)，分子量理论吸光度 (AU/umol) 和理论 Tm 值。内置多种蛋白定量检测方法，包括 Bradford, BCA, Lowry, Biuret 和直接紫外法，最多可支持 27 个标准样品制作标准曲线并可以保存。此外，仪器还可以单点校正或者多点校正、自选波长测定目标样品浓度。大面积高分辨率液晶屏上可显示所有结果，包括标准曲线波长扫描图像，处处体现方便用户的宗旨。

此外，NanoVue 还是唯一不需电脑就能在仪器面板上直接检测的超微量分光光度计。仪器配置了一块大面积高分辨率的背光液晶屏和操作面板。点样，按键测量，擦拭一气呵成。你看，又节省了一台电脑的费用，在当前这种经济形势下，钱还是要省着花。你可以通过整合的打印机直接打印分析数据。当然，如果需要在电脑上保存分析数据，NanoVue 同样支持 USB 或蓝牙连接电脑，将珍贵的实验数据永久记录下来。

NanoVue 分光光度计以其高效的检测性能和极佳的操作便利性赢得了众多用户的青睐，说不定从今以后比色皿就这样慢慢消失了。

[点击索取 NanoVue 分光光度计的更多资料](#)

（生物通 余亮）

# 十大创新产品之 NimbleGen 序列捕获芯片



新一代测序技术之所以迷人，是因为它一次运行几天就完成了我们若干人若干年才能完成的任务。不过在其风光的外表之下，也有着不为人知的艰辛。运行费用太高，这让众多想吃螃蟹的研究人员只能望而兴叹。连最知名的 Sanger 研究院都有些吃不消，更何况一般的研究人员。我们以前处理中最简单的 PCR 来举例说明一下。

如果你想对 1000 个基因(约 7000 个外显子)进行测序，那么你首先要设计并合成 14000 条 PCR 引物，扩增出目的片断。以每条引物 10 元的最优惠价格计算，这部分的费用大约是 14 万(注：本文列出的价格均为人民币)。另外，7000 个 PCR 反应的费用姑且算作 3.5 万元。那么，仅仅是 PCR 这部分，费用就蹭地升到了 18 万左右。这还只是试剂的费用，人工呢？设计 7000 对引物，这可不是一般的工作量，每天设计 100 对，天天无休，也得两个月啊。还有痛苦的 PCR 过程，不出差错都要偷笑了。难怪有些机构买了新一代测序仪，却迟迟不敢开动。

看了这段话，估计有些跃跃欲试的研究者

开始泄气了。不过，科技的魅力就在于其不断创新，生命科学尤其如此。这不，罗氏公司属下 NimbleGen 公司就推出了全新的解决方案。只需 1 块 NimbleGen 革命性的序列捕获芯片，就能靶定上面 7000 个外显子，一步完成富集步骤，极大地节省了费用、人力和时间。

NimbleGen 序列捕获芯片可是天字第一号，专门用于解决测序时样品制备的瓶颈。这种芯片可以量身定制，能捕获连续或分散的基因组区域，灵活性非常高。

NimbleGen 序列捕获芯片的原理与一般的芯片类似，不过据罗氏的专家介绍，探针的长度会稍长一些。至于探针的具体信息，那就是



NimbleGen 的专利了，外人不得而知。捕获过程也很简单：基因组 DNA 被打断，然后与定制的序列捕获芯片杂交，没有杂交上的片段被洗掉。富集的目标群体随后被洗脱并扩增，就能用 GS FLX 进行高通量测序了。

**NimbleGen 序列捕获芯片的优势：**

**定向捕获基因组目标区** 目前一块芯片最长可捕获 5 MB 的指定基因组区域，特异性和覆盖度都很高。

**数据可靠** 芯片上包含了对照探针，用于验证系统的性能。基于已知、独特的基因座，这些目标区域提供了对照基因座富集水平的定量测定方法。

**你说，我捕获** 每个人感兴趣的区域都不一样，只要你选择出想要捕获的区域，Roche NimbleGen 就会设计并合成一块定制的序列捕获芯片。捕获区域可以是连续或非连续的基因组长片段、全外显组或其他任何区域。

**省钱、省时又省事** 有了这块芯片，什么引物设计、PCR，都抛到脑后吧，一次就得到了可直接用于测序的所有目标区域。与 PCR 方法相比真是省钱、省时又省事。

至于它的表现如何，我们让 paper 来说话。贝勒医学院是它的早期用户之一。Albert 等人研究表明，序列捕获方法较之于以前的 PCR 方法是一种更简单、更精准、更高效、更经济的方法。通过一次实验，超过 6,700 个外显子可以被同时富集并分析，相当于达到 5 百万个碱基对的连续基因组区域。如果利用以前的方法，则可能需要耗费至少 6 个月的时间<sup>1</sup>。Okou 等在 1.7 Mb 的区域中捕获 >300 kb 的编码区域。随后重测序的碱基检出率为 99.1%，准确率为 99.81%<sup>2</sup>。Hodges 等用 7 块芯片总共捕获了 204,490 个外显子，基因组编码区域和邻近剪接位点的长度达 44 Mb。捕获的片段在测序中产生了 109 Mb 的序

列读长。目标外显子的平均富集度为 237 倍，超过 50% 产生了序列数据<sup>3</sup>。

序列捕获芯片能应用在外显子区域、大的基因座和候选基因群重测序上。许多疾病如癌症、心血管疾病、代谢失调等都涉及多个基因。选择性地富集基因组编码区域有助于我们了解复杂的遗传疾病。大的基因座的测序是发现和分析 SNP 及其分布的好方法。未来还可能应用在对重要的植物基因组分析上，例如分析数量性状位点。选择性富集也是对大规模基因群测序时的必经之路，如毒性研究、代谢信号基因群和 ADME 药物基因组学分析。

在了解了它的性能后，你一定更关心它的价格。如果你现在定制，那真是赶上好时机了。现在罗氏携手国家人类基因组南方研究中心推出“珠联璧合，倾情回馈”的特价活动。如果你只需序列捕获的服务，目前芯片的优惠价为 24750 元，而设计的费用为 8250 元。只需 3 万多块，就轻松完成了以前十几万才能完成的工作。再加上后面的 454 测序服务也只需 13 万元。你提供 21ug 的基因组 DNA，并标明想要捕获的区域就 OK 了，交付给你的是最终的测序结果。最短的时间，最小的投入，实现发顶级杂志的梦想。

1. Albert TJ, et al. "Direct selection of human genomic loci by microarray hybridization," Nature Methods 2007 Nov; 4(11):903-5.

2. Okou DT, et al. "Microarray-based genomic selection for high-throughput resequencing," Nature Methods 2007 Nov; 4(11):907-9.

3. Hodges E, et al. "Genome-wide in situ exon capture for selective resequencing," Nature Genetics 2007 Dec; 39(12):1522-7.

(生物通 余亮)