

# EBIOTECH

生物通技术周刊

第47期

2008年10月13日

## [技术前沿]

蛋白样品制备全攻略

新一代的体外表达系统

让蛋白想唱就唱 革新的ProteoTuner 技术

## [新品速递]

首款非编码RNA芯片问世

iFOLD助你轻松完成蛋白复性

降解的RNA也能进行全转录本扩增

GE新推四款层析填料，用于抗体和病毒的纯化

## [应用指南]

Affymetrix技术助力癌症基因组计划

RAININ八道移液器在乳制品三聚氰胺检测中的应用

## [行业动态]

生物梅里埃开发前列腺癌诊断新方法

秀快乐实验室 赢开心大奖

全球股灾 生物大公司无一幸免

Invitrogen和ABI的新公司更名为生命技术公司

罗氏授权Exiqon在定量PCR中使用SYBR Green

赛默飞世尔举办高端产品客户技术交流会

# 蛋白样品制备全攻略

双向电泳可不是一件容易的差事，花银子花时间不说，结果还很难重复。想要搞定双向电泳，关键在于建立一套有效、可重复的样品制备方法。方法是多种多样的，不过都基本遵循以下的原则：

1. 样品缓冲液中离子浓度的控制
2. 溶解包括疏水蛋白在内的所有蛋白质
3. 防止聚焦过程中已溶解蛋白质的聚焦和析出
4. 防止样品制备过程中及其后蛋白样品的酶或化学降解等的修饰反应
5. 去除或完全降解核酸及其他干扰分子
6. 去除高丰度或不相关的蛋白质，提高低丰度蛋白的浓度，使其达到检测要求

提高分辨率和确保重复性是双向电泳实验最重要的两个目标。蛋白样品制备在实现这两个目标的过程中起到了核心作用。Bio-Rad 公司的 ReadyPrep 试剂盒通过试剂增溶或差异溶解来减少脱尾或降低样品复杂性，从而成为用户可靠的实验工具。ReadyPrep 产品线包含一系列 2-D 样品制备试剂盒，不仅适用于通用样品（总蛋白）处理，而且可以将复杂样品按特定方法分级。处理通用样品的试剂盒包括总蛋白抽提和蛋白净化（clean-up）。样品分级试剂盒可用来降低样品复杂程度，同时有助于低丰度蛋白的富集和鉴定。这类试剂盒又分为两种，一种是基于蛋白不同的亚细胞定位来分离，另一种是对细胞总蛋白进行分级，从而适合于总蛋白质组分析。

从血清或血浆中提取的低丰度蛋白经常会受到白蛋白和 IgG 的干扰。白蛋白在血清总蛋白中的含量约为 60-70%，IgG 虽小，也不可轻

视，占了总蛋白的约 10-20%。这两种蛋白异军突起，常常掩盖了其它类似大小的蛋白，使我们无视低丰度蛋白的存在，也降低了双向电泳的分辨率。因此，在分析目的蛋白之前，我们一定要先干掉白蛋白和 IgG 这两个家伙。

样品中的核酸会对等电聚焦的结果产生干扰：DNA 复合物在变性条件下发生解离而使溶液的粘稠度增加，可阻碍蛋白质进入 IPG 胶条，并减慢蛋白质在胶条中的移动速度。DNA 也会与样品中的某些蛋白质结合，出现人工假象和条纹。

具体的解决方案如下：

## 去除盐分、去垢剂、脂类、酚类

### ReadyPrep 2-D 净化试剂盒

ReadyPrep 2-D 净化试剂盒可去除蛋白样品中的去垢剂、盐分、小肽、脂类和酚类化合物。这些物质会干扰双向电泳。本试剂盒含有不受去垢剂、离液剂或其它实验中常用试剂干扰的沉淀试剂，可充分沉淀样品蛋白，并保证了蛋白样品的回收效率和浓度。

## 去除白蛋白

### Aurum Affi-Gel 蓝胶小型试剂盒和层析柱

通过亲和层析，Affi-Gel 蓝胶能去除血清和血浆中 90% 的白蛋白。

## 去除白蛋白/IgG

## Aurum 血清蛋白 Mini 试剂盒

Aurum 血清蛋白 Mini 试剂盒包含了 Micro Bio-Spin 层析柱, 其中填充了 Affi-Gel 蓝胶和 Affi-Gel Protein A 填料。这两种树脂混合物能同时选择性地结合白蛋白和 IgG, 处理过的样品无需额外纯化, 就能立即用于 2D 的分析。一次纯化就能搞定两个东西, 操作步骤减少了, 效率也提高了。

### 去除 DNA

最简单的方法就是酶解。当样品用高 pH 溶液裂解后, 在溶液中加入核酸内切酶, 既能有效降解核酸, 又能使内源性蛋白酶的活性最低。也可以在冰浴环境中, 通过超声处理的方法将大片的核酸打断成小片段后, 直接进行双向电泳。

### 总蛋白抽提

#### ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒 (总蛋白)

ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒 (总蛋白) 是一种操作简单、快捷、重复性好的试剂盒, 用来抽提适合于双向电泳的细胞全蛋白。试剂盒中离液性超强的抽提溶液含有兼性去垢剂 ASB-14, 从而使该溶液能溶解各种细胞的全蛋白。

### 根据亚细胞定位分步抽提

#### ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒 (膜 I)

本试剂盒是利用 Triton X-114 在一定温度下可与水相分层的原理将蛋白分离。经过最后一步的离心步骤, 溶液被分级成上层的水相和下层的高去垢剂相。此外还有一些难溶的沉淀, 这些沉淀主要是更加复杂的膜蛋白。进入上下两相的蛋白再用 ReadyPrep 2-D 净化试剂盒 (含在本试剂盒中) 净化, 以去除抽提过程中混入

的可能干扰 IEF 的物质。

#### ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒 (膜 II)

膜 II 试剂盒做为其它膜蛋白分离试剂盒的补充, 是专门为有效分离较为复杂的膜蛋白而优化的。抽提的过程用到了碳酸钠和超速离心机。试剂盒中的 2-D 水化/上样缓冲液含有强离液性的兼性去垢剂 ASB-14。

#### ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒(信号)

绝大多数细胞的胞浆膜都有富含神经鞘磷脂和胆固醇的微区域 (脂筏)。与这些脂筏相联系的蛋白往往是参与物质跨膜转运或信号转导的蛋白质。这类蛋白包括 GPI 锚订蛋白、caveolin、caveolae (caveolin-associated proteins)、酰化酪氨酸激酶、G 蛋白异三聚体, 以及一些含跨膜结构域的蛋白 (Simons and Ikonen 1997, Brown and Rose 1992, Parton and Simons 1995, Anderson et al. 1992)。与胞膜当中这些富含酯类的微区域相结合的蛋白质在 4°C Triton X-100 的溶液中难溶。ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒(信号) 利用这一原理将信号蛋白有选择性地加以回收。

#### ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒(胞浆/核)

ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒(胞浆/核)使用一种专门配制的缓冲液和差速离心将细胞核完整地分离出来(Dignam et al. 1983, Zerivitz and Akusjarvi 1989)。本试剂盒包含一种强离液性的缓冲液, 可有效溶解膜蛋白, 并可直接用于双向电泳分离。如要对胞浆组分进行分析可以将蛋白样品先用试剂盒中带的 ReadyPrep 2-D 净化试剂盒处理。

### 根据不同的溶解度分步抽提

#### ReadyPrep 顺序抽提试剂盒



ReadyPrep 顺序抽提试剂盒是为全蛋白质组分析而设计的。本试剂盒将初始蛋白样品根据溶解性的不同分成三个组分。当蛋白的亚细胞定位不能确定时，本试剂盒还可以用来搜寻特定的蛋白。依照溶液溶蛋白能力的增加将蛋白样品进行顺序抽提可以溶解更多的蛋白，从而使蛋白质组的信息更全面。

### ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒 (可溶/不可溶)

ReadyPrep 蛋白抽提试剂盒 (可溶/不可溶) 可将细胞全部蛋白分为两个组分——以亲水性蛋白为主的可溶性组分和以疏水性蛋白为主的不可溶组分。这种简单的分级方法可有效降低样品的复杂性，提高低丰度蛋白的检测效率，从而在总体上改善总蛋白质组的分离效果。

### 保持蛋白的还原状态

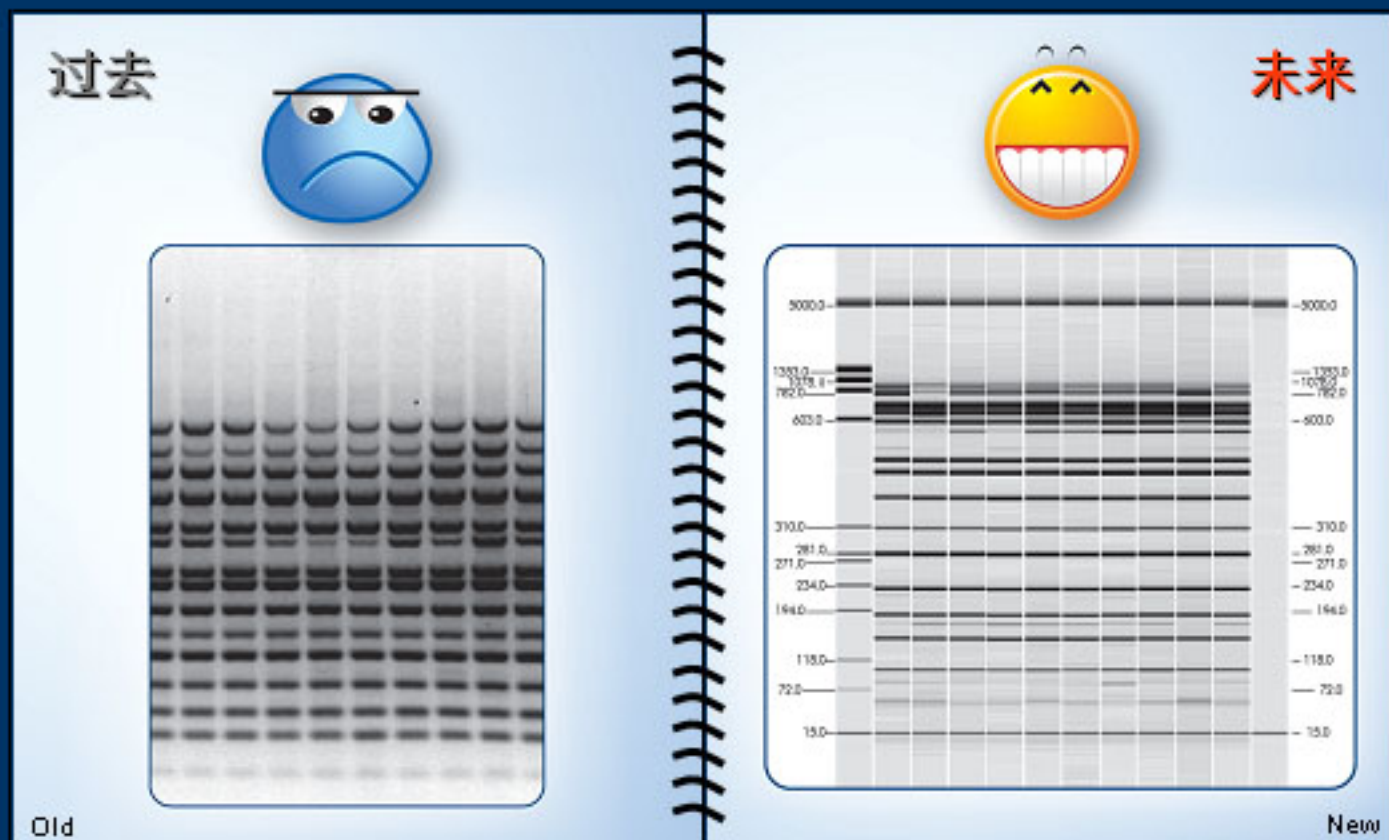
### ReadyPrep 还原/烷化试剂盒

ReadyPrep 还原/烷化试剂盒首先将半胱氨酸残基之间的二硫键还原，然后将还原出来的巯基烷化，使得这些基团永久保持还原状态。这样做有助于防止假蛋白点的出现并能让 IPG 胶条中更多的蛋白质转移到第二向的 SDS-PAGE 胶中。本试剂盒对分析碱性蛋白质特别有效。因为胶条碱性部位的 DTT 容易电离，在电场作用下迁移出 IPG 胶条，从而使胶条中 DTT 减少，蛋白质二硫键重新形成。绝大多数生物含有较多数量的碱性蛋白，这类蛋白的 pI 值高于 pH 7。

要想得到好的双向电泳结果，绝大多数样品都需要通过多次实验才能摸索到最适宜的条件。所以革命尚未成功，同学仍需努力！

(生物通 余亮)

# Bye-bye了，传统凝胶电泳！



3-5分钟常规片段分离；10分钟高分辨率片段分离……

不用制胶、上样、拍照……

一切尽在鼠标轻点之间……

QIAxcel新一代的核酸片段分析系统，开启凝胶电泳的新篇章！

更多QIAxcel信息请点击进入>>

# 新一代的体外表达系统

与其它表达系统相比，体外表达是获取蛋白的最快方法。从 PCR 或者质粒模板开始，到体外蛋白质的合成及功能检测仅需几个小时，省去了转化、转染、挑克隆等诸多繁琐的步骤，且不需要任何宿主菌，因此，特别适用于体外合成毒性蛋白及易受蛋白酶水解的蛋白质。

市场上销售的体外表达系统多是由 E.coli S30、兔网织红细胞或者麦胚的提取物衍生而来。这些系统往往有一个缺陷：常常有非特异性核酸酶和蛋白酶影响蛋白质合成。此外，细胞提取物就像一个“黑匣”，许多不确定因素会改变和影响下游实验。

虽然上述这些不利因素可以通过以下方法部分克服，例如：使用经过基因工程改造的菌株、加入多种抑制剂等，但是，无论怎样，都不能从根本上解决问题。

2001 年，东京大学的 Takuya Ueda 博士和同事首次利用重组的元件在体外合成蛋白质，除了来自 E.coli 的高度纯化核糖体和 rRNAs 外，其余组份都是重组蛋白。这就是“PURE”系统，即 Protein synthesis Using Recombinant Elements 的缩写，后经日本东京的 Post Genome Institute (PGI) 商业化。NEB 公司获得了 PGI 的授权，并经过优化改良，开发出新一代的 PURExpress 体外蛋白质合成试剂盒。

PURE 系统中的所有活性组份都来自于重组，避免了核酸外切酶，RNase 和蛋白酶的污染，使 DNA 模板不被降解，表达的蛋白也不会有任何降解和修饰。转录和翻译过程仅需混合两管试剂，一步反应即可完成，省去大量实验时间，特别适合于高通量分析。

## PURE 系统的组分

- 携带 His-Tag 的翻译因子
- 起始因子 (IF1、IF2、IF3)
- 延伸因子 (EF-Tu、EF-Ts、EF-G)
- 释放因子 (RF1、RF2、RF3)
- 核糖体再生因子
- 20 种氨基酸 tRNA 合成酶
- 甲硫氨酰 tRNA 甲酰转移酶
- E.coli 核糖体
- E.coli tRNAs
- 能量再生系统
- NTPs、氨基酸、盐、缓冲液

此外，试剂盒中应用重组 T7 RNA 聚合酶应用于转录和翻译。PURE 系统向体外转录和翻译蛋白质迈出了重要一步，避免了细胞提取系统的“黑匣”作用。

## PURE 系统的优势和适用范围

PURE 系统比其他体外表达系统使用更方便，合成能力更强。最为显著的优点就是去除了所有污染可能。该系统可用于表达绝大多数蛋白质，表达量超过 100 µg/ml。由于翻译混合液的背景表达很低，因此，合成后的蛋白质通

常不需要提纯就可以直接用于检测。PURE 系统中所有蛋白因子都是重组蛋白质并且融合有 His-tag，以便“反向”纯化表达的蛋白质，正是由于系统成份的高纯度，产品寿命也得到了延长，试剂盒经得起反复冻融 5 次，而不影响其活性。

新一代的体外表达系统应该包含有特定的组分，无背景表达，并且在高表达的同时能够对各种蛋白质进行正确折叠。PURE 系统就是向此方向努力的一个典型，改进的重组系统将更适用于不同用户的要求，如：表达膜蛋白、多亚基聚合体和特殊修饰蛋白等复杂蛋白；允许合成条件的改变，如：提高或降低温度、改变离子强度和调控氧化还原环境等。

PURE 系统提供了以下几个优势：

- 无核酸内切酶和蛋白酶活性，减少了样品降解
- 适用于环状和链型模板
- 方便使用，混合两管试剂后加入 DNA 模板
- 仅需约一小时就可完成蛋白质表达
- 纯化的组份为翻译、分泌和折叠提供更严格的控制
- 纯化步骤简便，转录/翻译成份可通过亲和层析去除
- 试剂经得起多次冻融

(生物通 余亮)

# 让蛋白想唱就唱 革新的 ProteoTuner 技术

探索蛋白功能是很多人的研究方向。蛋白过表达是其中最经典的方法，不过蛋白表达的调控可不是一件容易的事。你可以通过 RNAi 在 RNA 水平对蛋白进行调控，不过要想在蛋白水平直接进行调控，却无计可施。现在终于梦想成真了。Clontech 公司革新的 ProteoTuner 系统就像一个收音机，让蛋白想唱就唱。

ProteoTuner 系统最初是由斯坦福大学的 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。

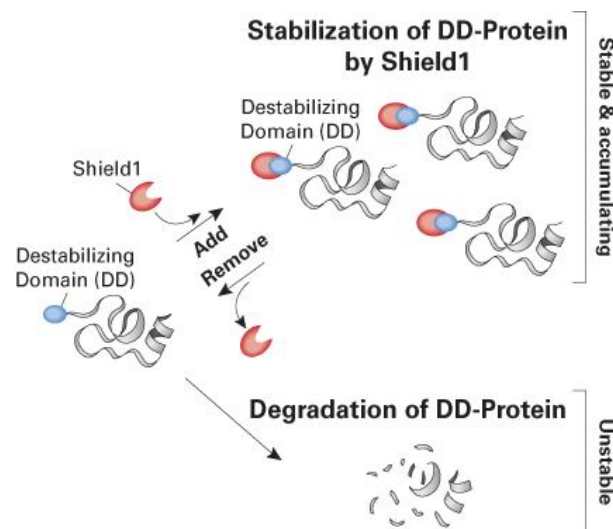
## 简单但行而有效的技术

ProteoTuner 系统有两个主要元件来控制目的细胞的表达水平：

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。



## 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由选择。另外，还有多种抗性标记，有/无荧光，详见下表。

System	Conventional Plasmid Delivery	Viral Delivery	Antibiotic Resistance*	Fluorescent Protein
ProteoTuner™ System	Yes	No	G418	No
ProteoTuner™ IRES2 System	Yes	No	G418	(IRES2) AcGFP1
Retro-X™ ProteoTuner™ System	Yes	Retroviral	(IRES) Puromycin	No
Retro-X™ ProteoTuner™ IRES System	Yes	Retroviral	No	(IRES) ZsGreen1
Lenti-X™ ProteoTuner™ System	Yes	Lentiviral	(IRES) Puromycin	No
Lenti-X™ ProteoTuner™ Green System	Yes	Lentiviral	No	(IRES) ZsGreen1

(生物通 余亮)

# 首款非编码 RNA 芯片问世

Invitrogen 公司近日宣布推出首款用于非编码 RNA 图谱分析的高密度芯片。NCode Human and Mouse non-coding RNA microarrays 在一张芯片上同时包含了非编码 RNA 和 mRNA 的内容。这些芯片由 Invitrogen 设计，并由安捷伦公司利用专利的 SurePrint 技术来制造。

转录过程不仅仅包含了最终翻译成蛋白质的 mRNA，还包括好几万个非编码 RNA。这些非编码 RNA 似乎蕴藏着与哺乳动物发育和疾病信号相关的大量遗传信息。

澳大利亚昆士兰大学分子生物学教授 John Mattick 指出：“非编码 RNA 转录本在细胞中扮演着多种角色-从简单的内务到复杂的调控功能，还有种种迹象显示它们在癌症中的表达被打乱。由于它们的功能多数未知，这些转录本成为分子遗传学、分子生物学、生理学和细胞生物学研究的新前沿。”

Ncode 非编码 RNA 芯片包含了不编码生成蛋白的 RNA 序列，以及相当于 mRNA 的序列。这些非编码序列是由 Mattick 教授的实验小组产生并验证，并独家授权给 Invitrogen 公司。

Invitrogen 基因表达谱的副总裁 Amy Butler 表示：“当我们与科学家谈论他们对于非编码 RNA 的兴趣时，许多人告诉我们他们需要一种芯片，同时包含 mRNA 和非编码 RNA，这将会帮助他们阐明与已知基因表达通路相关的特定非编码 RNA 的功能。我们独家提供这样一种解决方案，在芯片上同时具有上万条编码和非编码的序列，将能在单个实验中解决多个学术问题。”

由于 Ncode 非编码 RNA 芯片包含了上万条序列，它们会非常密集地排布在玻片上。为了满足密度要求，Invitrogen 与安捷伦公司合作，运用安捷伦专利的 SurePrint 技术来制作 Ncode 非编码 RNA 芯片。Invitrogen 将负责推广和销售产品。

安捷伦公司基因组学的副总裁 Yvonne Linney

博士表示：“安捷伦 Sureprint 技术的精确度和灵活性确保芯片的性能和质量达到了新的水平，这对于以芯片为基础的基因表达研究来说至关重要。Invitrogen 选择 SurePrint 技术来制造这款新芯片，也确保了 Ncode 非编码芯片的性能始终如一。”

关于更详细的芯片信息，请访问：  
[www.invitrogen.com/Ncode](http://www.invitrogen.com/Ncode)。

## 关于 Invitrogen

Invitrogen 公司竭诚为全球的科研和政府研究机构、药厂和生物公司提供产品和服务，旨在改善人类的现状。该公司提供了用于疾病研究、药物开发和商业生产的必要生命科学技术。Invitrogen 自身的研发力量主要集中于在生命探索的各个领域包括功能基因组学、蛋白质组学、干细胞、细胞治疗和细胞生物学中开拓创新，使 Invitrogen 的产品能够遍布全世界的所有实验室。Invitrogen 成立于 1987 年，总部设在加州的 Carlsbad，在 70 多个国家设有办事处。该公司拥有约 4700 名科学家和其他专业人员，2007 年收入约 13 亿美金。更多信息请访问 [www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com)。

## 关于安捷伦

安捷伦科技公司是世界上最好的测量公司，也是通信、电子、生命科学和化学分析领域的领先者。该公司总部设在美国加利福尼亚州，拥有 19000 名员工，为 110 多个国家的客户提供服务。安捷伦在 2007 财年的净营业收入达 54 亿美元。更多关于安捷伦的信息，请访问：[www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

(生物通 余亮)

# iFOLD 助你轻松完成蛋白复性

蛋白终于表达出来了，不过是包涵体，真是喜忧掺半。虽说蛋白的复性还不是 mission impossible，却也是一项相当艰巨而漫长的任务。与蛋白结晶类似，并没有放之四海而皆准的通用法则，每个蛋白的复性条件可能皆不相同。我们只有不断地尝试，才有可能获得最佳的结果。话虽说得轻巧，实验的艰辛和痛苦却不是人人都能体会的。

所幸现在有一些商业化的蛋白复性产品，能帮助我们筛选各种各样的复性条件。原核表达的金字招牌Novagen公司就曾推出了iFOLD蛋白复性系统 1 和 2。它们的缓冲液成分是根据 Refold 数据库 (<http://refold.med.monash.edu.au/>) 中蛋白复性的成功数据来确定的。这两个系统囊括了近两百种不同的复性条件，覆盖了一系列缓冲液、盐和添加剂，包括氧化还原伴侣、精氨酸、甘油、环式糊精、离液盐、乙二醇等，能高通量快速筛选复性条件。

最近，iFOLD 蛋白复性系统又有了续集——iFOLD 3 闪亮登场。与它的前辈类似，iFOLD 3 也是以 96 孔板的形式筛选复性条件，不过它采用了一套全新的化学试剂——FoldACE——作为主要的复性添加剂。

这个 FoldACE 试剂是什么来头？有什么好处呢？它是从一个能增加蛋白回收率的化学试剂库中筛选出来的。FoldACE 试剂共有五种，每一种都是水溶性的有机盐，分子量小于 500 Da。它们不是去污剂，也不会形成胶束。在蛋白复性之后，FoldACE 试剂可以通过金属螯合亲和层析或分子筛的方法有效去除，透析或超滤也可以。实验表明，它们能显著增强某些蛋

白的折叠效率。

除了 FoldACE 试剂，iFOLD 3 系统复性缓冲液的 pH 缓冲液成分也是五选一，分别是 Bis-Tris、MOPS、HEPES、EPPS 和 TAPS。孔中还包含了还原剂（TCEP）或谷胱甘肽氧化还原缓冲液。iFOLD 3 能根据不同的缓冲液、pH 值、氧化还原剂和 FoldACE 试剂的组合，筛选一个蛋白的 96 种复性条件（91 个实验孔和 5 个对照孔）。

筛选流程如下：

起始物质：包含目标蛋白的细胞 → 收集细胞 → 超声裂解细胞，并加入 Lysonase 生物处理试剂 → 离心收集包涵体 → 用 Triton X-100 洗涤包涵体 → 用盐酸胍变性包涵体 → 用 iFOLD 3 平板快速复性目标蛋白 → 用 D-Tube96 透析器透析缓冲液 → 分析复性蛋白

如果你的蛋白用 iFOLD 1 或 2 就能复性，恭喜你。如果它们都无能为力，那就试一试 iFOLD 3 吧，全新的 FoldACE 试剂说不定能带来意想不到的效果。

（生物通 余亮）

# 降解的 RNA 也能进行全转录本扩增

Sigma-Aldrich 公司近日推出第二代的 TransPlex 全转录本扩增 (WTA2) 技术 (<http://www.sigma.com/wta>)。TransPlex 技术被认为是当今最快、最灵敏、最可靠的总 RNA 扩增方法，适用于多种组织样本，如动物、植物和微生物。WTA2 特别为 FFPE 组织样品优化过，是 WTA 技术的又一补充。

TransPlex WTA 技术能从总 RNA 模板中创建 cDNA 文库，并在单个 PCR 反应中扩增文库。TransPlex 试剂和步骤经特别优化，确保所有表达的基因和外显子的克隆和随机扩增，4 个小时内即可让 RNA 样品扩增 1000-10000 倍。扩增的 RNA (cDNA) 适用于 qPCR、芯片分析和传统的克隆。Sigma-Aldrich 的 WTA2 技术非常可靠，专为部分降解的 RNA 设计，是肿瘤样品的 FFPE 组织的理想选择。

TransPlex WTA 过程包括两步：1. 文库合成；2. 文库扩增。RNA 样品与反转录酶、3' 端准随机引物和 5' 端通用引物共同孵育，合成 cDNA 文库。退火的引物由 WTA 聚合酶进行延伸，并在引物退火和延伸的过程中取代单链成为新的模板。这个过程产生了 OmniPlex cDNA 文库，它包含了随机、重叠的 100-1000bp 片段，并伴有通用的末端序列。最后，用通用引物的 PCR 扩增 OmniPlex cDNA 文库，产生微克级的 WTA 产物。

Sigma-Aldrich 市场部的副总裁 Helge Bastian 表示：“Sigma-Aldrich 承诺将最好的技术带给基因组研究界。TransPlex 全转录本扩增产品线为研究数量有限、质量不佳的 RNA 样品的研究者们提供了重要的工具。”

## 关于 Sigma-Aldrich

Sigma-Aldrich 是一个领先的生命科学和高科技公司。它的生化和有机化学产品和试剂盒广泛应用于基因组学研究、生物技术、药物研发和疾病诊断，并成为药物及其他高科技生产的关键组分。该公司的客户遍布生命科学公司、大学和政府研究院、医院和工业。超过百万科学家和技术人员使用其产品。Sigma-Aldrich 致力于通过在生命科学的领导地位、高科技和服务来加速客户的成功。如需 Sigma-Aldrich 的更详细信息，请访问 [www.sigma-aldrich.com](http://www.sigma-aldrich.com)。

(生物通 余亮)



# GE 新推四款层析填料，用于抗体和病毒的纯化

通用电气医疗集团（GE Healthcare）最近推出四款用户定制设计的 BioProcess 亲和层析填料，用于在工业规模纯化各种生物药品，包括抗体、抗体片段和腺相关病毒（AAV）。这些新填料作为通用电气定制填料计划的一部分，能一步就纯化出高纯度和高产量的生物药品。

新的定制填料包括：**KappaSelect** 用于纯化含 **kappa** 轻链的抗体片段；**IgSelect** 用于纯化人的 **IgG**；**AVB Sepharose High Performance** 用于纯化 **AAV**；**VIIISelect** 用于凝血因子 **VIII** 的生产。这些填料在设计时已经考虑到生物处理中必需的可靠性，包括高的化学稳定性，和坚硬的琼脂糖基体，确保高流量以及能处理大规模的样品，从而增加通量。

新的填料是应用固定的单链抗体片段作为层析的配体，并与 **BAC** 公司合作开发的。**BAC** 开发并生产抗体片段，应用于生物药品的制造。通用电气的定制填料小组利用这些抗体片段开发出新的层析树脂。

**GE Healthcare** 的生物技术部总经理 **Nigel Darby** 表示：“到目前为止，除了 **Protein A** 之外，基于蛋白的亲和树脂还非常少，因为缺乏

可靠的技术方案。我们与 **BAC** 的合作非常成功，开发出定制的亲和树脂，为生物制药生产的客户提供了重要的工具，帮助他们降低成本并增加通量，同时维持高产量和高质量。客户定制设计的填料是 **Bioprocess** 的重要部分，能帮助我们支持客户生产新产品。”

通过与客户紧密合作，定制设计填料计划（**CDM**）提供了独特的层析解决方案，帮助他们优化特定的生物处理应用。它是通用电气高级技术产品线的一部分。这个产品线还包括各种规格的 **BioProcess** 层析填料；从小试到生产规模的 **AxiChrom** 层析柱；上游和下游生物处理的即用型解决方案 **ReadyToProcess** 平台；以及高通量工序开发的 **PreDictor 96** 孔过滤板。

（生物通 余亮）

# Affymetrix 技术助力癌症基因组计划

世界顶尖的基因组研究中心——Wellcome Trust Sanger 研究院正承担着多个大型的国际研究计划，其中包括了癌症基因组计划（Cancer Genome Project）。癌症基因组计划是利用人类基因组序列和高通量的突变检测技术来发现体内的序列变异或突变，从而鉴定出在癌症发育中起关键作用的基因。计划中的癌细胞系有近 800 种，包含了大多数人类癌症的样品。再加上 400 多种正常的对照样品，大约有 1250 个样品。Wellcome Trust Sanger 研究院已经利用 Affymetrix 公司的 Genome-Wide Human SNP Array 6.0 发现了近八百种癌细胞系中的结构基因组变化。SNP Array 6.0 具有遗传变异的 180 多万个标记，其中包括 90.7 万个单核苷酸多态性（SNP）和 94.6 万个检测拷贝数变异的探针。

Wellcome Trust Sanger 研究院的研究小组能够绘制出每个样品中的基因组区域，着重于癌症发生时的变化。这些结构改变会使基因失活，或增加基因的活性。

Wellcome Trust Sanger 研究院的项目带头人 Graham Bignell 博士称：“以前我们用的是旧版本的芯片，结构变异图谱的分辨率就低一些。新的数据组让我们能够以更精细的角度来审视这些变化，分辨率也增加了 180 倍。通过对近 800 个样品的分析，这些图谱为癌症发育时基因组的平均变化提供了非凡的视角。”

作为正在进行的癌细胞系研究的一部分，60 多种已知癌基因的突变正在鉴定，所有的数据都放在 Wellcome Trust Sanger 研究院的 COSMIC 网站上，对公众开放。

Affymetrix 总裁 Kevin King 表示：“通过这些发现，Wellcome Trust Sanger 研究院能增强它们在基因组研究上的前沿地位。SNP Array 6.0 检测拷贝数变化的能力将加深我们对于疾病的了解，并最终帮助科学家们开发出更好的诊断和治疗手段。”

（生物通 余亮）

# RAININ 八道移液器在乳制品三聚氰胺检测中的应用

在三鹿“毒奶粉”事件曝光后,国内多个乳品企业“中招”,其中不乏乳品业的龙头企业,一时间国人“谈奶色变”,对食品中三聚氰胺的快速可靠检测迫在眉睫。

目前市场上对三聚氰胺的检测方法主要有高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱串联质谱法(GC-MS)以及液相色谱串联质谱法(LC-MS)。这些方法虽然能准确检出三聚氰胺,但是仪器成本高,对实验人员技术要求高,检测速度慢,在当前情况下很难迅速在国内普及。而ELISA则提供了一种低成本,同时又可高通量快速检测三聚氰胺的方法,也是一个不错的选择。

ELISA 检测试剂盒是高通量检测三聚氰胺的有力工具。每个酶标板有 96 个孔,除去空白孔和对照孔,每次能检测 80 多个样品,这是其他方法所无法比拟的。而且操作简便,实验人员很快能掌握方法。在酶标法中,需要将处理后的样品准确移取到 96 孔酶标板上,必须使用的移液工具就是八道移液器,同时在样品的制备过程

中还要辅以单道移液器。在这个过程中,移液器的精度和重复性的高低对检测结果会有一些影响。

RAININ 八道移液器独特的 LTS 吸头设计,既保证了 8 个通道取液量的一致性,而且由于摒弃了某些传统八道移液器的 O 型环设计,避免了对样品可能造成的污染。同时符合人体工程学的设计,使高通量移液变得轻松,减轻了检测人员手部疲劳,提高了工作效率。日前北方某乳业龙头企业的一个厂区,就购买多支 RAININ 的八道和单道移液器用于原奶检测。他们主要采用酶标法对样品进行粗筛,然后再用高效液相法作进一步检测,这样大大加快了样品的检测速度,保证了当天产出的原奶能够及时检测。

# 生物梅里埃开发前列腺癌诊断新方法

前列腺癌在美国是最为普遍的癌症，而在全球最常见的癌症排名中，前列腺癌位于第四位。目前，人们将对新的前列腺癌生物标记物 Annexin 3 的检测与标准筛选方法进行结合，与使用单一的当前筛选方法的做法相比，这种做法能够减少当前高达 75% 的活检。

全球体外诊断的领导者，生物梅里埃已经与德国生物技术公司 ProteoSys 签订了许可协议，允许其开发 Annexin 3，Annexin 3 可用于为前列腺癌研发尿液确诊检测。该新型检测将在研究阶段之后在全球被最广泛使用的免疫检测自动化系统之一的 VIDAS® 平台上进行研发。

ProteoSys 的首席科技官 André Schratzenholz 指出，“毫无疑问我们会与生物梅里埃进行合作，因为生物梅里埃的战略重点放在肿瘤学领域，它的 VIDAS 平台和它广泛的商业网络均处于市场领先地位。”

生物梅里埃的首席执行官 Stéphane Bancel 也宣称，“我们非常高兴能够与 ProteoSys 公司合作，以便为全球的泌尿科医师带来如此创新的生物标记物。”他还强调，“该协议也是我们具有较高医学价值的检测战略的另一重要部分。”

Annexin 3，也被称为 ANXA 3，是由位于美因兹的德国生物科技公司 ProteoSys 公司发现的。该公司专注于细胞生物学及蛋白质组学领域。研究表明，对前列腺癌患者来说，尿液中的 ANXA 3 量化是最新的非侵入性检查，具有极高的特异性。(1)。目前，当 PSA (前列腺特异抗原) 的水平为无法判断的“灰区”时，可使用活检来进行确诊。ANXA 3 检测可用于对前列腺癌患病概率较高的患者进行更好的确认，从而减少不必要的活检数量。

虽然并发症的发生机率很低，但是活检会使病人感到焦虑、不适，同时也会医疗保健系统额外花费更多的成本。在美国，做过活检的病人中，只有大约 15% 的病人被诊断确实患有前列腺癌，而每次活检将花费 \$1000 以上。

研究的第一阶段将会在生物梅里埃开始，之后便会研发 VIDAS 平台的检测试剂。虽然将最初的重点放在将确认诊断运用到 VIDAS 中，但是，正如核心出版物中所描写，生物梅里埃也会考虑 ANXA 3 的治疗决策及预后(2)。其具体细节还未披露。

ANXA 3 检测将会对 VIDAS 的 tPSA 和 FPSA 检测做出补充。生物梅里埃研发了对 VIDAS 系统来说具有极高医学价值化验的新型检测项目，它包括用于治疗脓血症的 VIDAS B·R·A·H·M·S PCT，用于保健相关感染的 VIDAS® 难辨梭菌 A 和 B 毒素，用于心血管病急症的 VIDAS D-二聚体 Exclusion™ 试验，VIDAS 肌钙蛋白 I，VIDAS CK-MB 和 VIDAS NT-proBNP。

## 关于 ProteoSys

位于美因兹的 ProteoSys AG 公司 ([www.proteosys.com](http://www.proteosys.com)) 是一家研究公司，主要致力于系统生物学研究，设有专有技术平台，结合众多蛋白质组学及细胞学信息。主要的技术 Proteotope 可提供有关蛋白质标记物具有统计学意义的精确信息，而这些蛋白标记物可以代替治疗方法、诊断学和毒性分析作用机理。ProteoSys 公司成功地规划了前列腺癌和乳腺癌，神经退化性疾病和胚胎毒性检测系统的相关项目。在其成立的 8 年多的时间里，ProteoSys 公司建立具有知识产权的一系列组合产品，这也使其能够在诊断及制药工业内与许多合作者达成许可协议。除了该公司自己的研发项目，ProteoSys 公司也与生命科学工业进行合作，并进行了许多由欧洲联盟 (FP6 & FP7) 和德国研究技术部资助的国内外研究项目 (有关项目概览及同行评议刊物，请登录 <http://www.proteosys.com/>)。

## References

Annexin A3 in urine – a highly specific non invasive marker in prostate cancer early detection. Schostak et al., J. Urol. In Press

Expression and Prognostic Relevance of Annexin A3 in Prostate Cancer. Köllermann J, Schlomm T, Bang H, Schwall GP, von Eichel-Streiber C, Simon R, Schostak M, Huland H, Berg W, Sauter G, Klocker H, Schratzenholz A., Eur Urol. 2008 Jan 16



# 秀快乐实验室 赢开心大奖

实验也是一种生活。

一次顺畅操作后成就感爆棚，一桩趣事能吸引眼球，一群奇人达人趣闻不断……

这些“乐元素”，你发现了吗？

把他们收集起来，参加 Eppendorf 的“发现乐元素”，秀“快乐实验室”活动，和实验室同伴一起，上传博文、图片或视频，参与投票评选，就有机会获得 iMac 电脑、JBL 音箱和 09 年全年 Science 印刷版杂志哦！

只要你上传日记、图片、视频，都将获得奖励积分，并在整个活动结束后兑换相应的 Eppendorf 公司的 ep-points 积分。

不过要注意啦，最终获得的实验室奖品，不属于个人，只归实验室团体所有哦，否则 Eppendorf 可能会收回哦。

除了实验室的集体大奖，Eppendorf 还为各位实验达人准备了丰富的礼品呢。参加“发现乐元素”的各项活动，都能累积个人积分。积分有什么用？当然是兑换礼品了。如果不能换礼品，积分还能叫积分吗？

游戏高手可有些沾光，游乐 Eppendorf 版块中的“快乐点点滴”、“快乐 flying”，简单的 flash 小游戏，不过能赚取不少积分哦。

玩的不过瘾？让小 E 小 P 再带你进入“快乐仪器馆”，从“实习生”慢慢的成长为“馆长”。“快乐仪器馆”全新的一款 Flash 游戏，引入更多的实验室器材，体验更多挑战。

个人积分还不够兑换奖品？那就快来参与“互动问卷”活动，每份问卷最高可达 1500 分，总共 7 份，让心仪的奖品唾手可得！

如果你的积分还不够换礼品，或者每一款礼品都兑换了你的积分还有多，或者礼品统统不喜欢，怎么办？

Eppendorf 让你的每一分都不会浪费！每 100 个“发现乐元素”网站的个人积分，可兑换 1 个“ep-points 分行中国”积分！几十款“ep-points”礼品，甚至可以兑换 Eppendorf 的优质产品，总有一款让你心动！

说了这么久，如果你还没心动我就服了 U。赶快去 <http://www.happyeppendorf.cn/> 参加吧。活动只剩 24 天了，错过了就只有后悔的份哦。

# 全球股灾 生物大公司无一幸免

金融风暴来临，上个月全球股市都受到大挫，生命科学行业的各大企业也无一幸免。

根据 GenomeWeb 十月份对 35 家企业的股票价格进行的追踪，发现生物企业的股价平均下跌 22 个百分点，低于道琼斯工业平均 (-14%)、纳斯达克 (-17%) 和纳斯达克生物技术指数 (-12%)。

光谱仪器公司 Bruker 是损失最为惨重的一家，股价从 13.33 美元跌至 4.09 美元，大幅下跌 69%。除了 Bruker，另外五家跌幅超过 50% 的公司分别是：Caliper (-50%)、Affymetrix (-52%)、Helicos (-55%)、CombiMatrix

(-57%) 和 Orchid Cellmark (-59%)。

跌幅最小的三家公司分别是：Rosetta Genomics (-6%)、Nanogen (-7%) 和 Bio-Rad (-9%)。

我们熟悉的其他生物公司跌幅分别为：ABI (-9.99%)、Beckman (-29.68%)、BD (-13.53%)、Illumina (-23.93%)、Invitrogen (-23.84%)、Luminex (-25.43%)、Millipore (-24.58%)、Qiagen (-27.72%)、Sigma-Aldrich (-16.33%)、Thermo (-26.18%)。

# Invitrogen 和 ABI 的新公司更名为 生命技术公司

Invitrogen 和 ABI 的合并有望在本月结束，根据 Invitrogen 的最新声明，合并后的新公司将会命名为 Life Technologies Corporation（生命技术公司）。

在 6 月份宣布合并计划后，公司称合并后的名字将为 Applied Biosystems（应用生物系统公司）。然而，这份合并的最新声明中称，合并后的新公司将以 Life Technologies Corporation 命名。交易结束后，新名字将会生效。纳斯达克的交易代码也更改为 LIFE。仪器和系统解决方案将仍会以 Applied Biosystems 的品牌出售，而众多的试剂仍将归于 Invitrogen 的品牌。

Life Technologies 本是一家位于美国马里兰州的分子生物学和细胞培养产品供应商，在

2000 年 7 月被 Invitrogen 收购。

Invitrogen 公司的 CEO, Greg Lucier 先生表示，新的领导小组选择了 Life Technologies 这个名字。随着整合过程的不断深入，他们认为 Life Technologies 最能代表他们共同的承诺。Lucier 指出：“我们的研究方向是带来更多的个性化药物、更安全的食物和水和更健康的环境。总而言之，我们提供技术，让生命更美好。”

（生物通 余亮）

# 罗氏授权 Exiqon 在定量 PCR 中使用 SYBR Green

罗氏诊断和以 miRNA 芯片著称的丹麦 Exiqon 公司最近签署了一项授权协议。根据协议的条款，Exiqon 从罗氏获得在实时定量 PCR 中使用 SYBR Green I 试剂的非独家许可。在实时定量 PCR 中，SYBR Green 是检测和定量 PCR 产物的最简单、也是最经济的方法。协议的财务条款没有公布。

罗氏应用科学部的主管 Manfred Baier 表示：“在我们看来，对实时定量 PCR 反应中 SYBR Green 试剂的授权使用是一个重要贡献，它将进一步促进 PCR 技术在生命科学领域的开发。”

罗氏和 Exiqon 在几个星期前签署了一项关于 2005 年 Exiqon 的 UPL 通用探针库的许可和销售协议的补充条款。

## 关于罗氏

总部设在瑞士巴塞尔的罗氏，是一个世界领先的、注重科研的医药和诊断产品开发集团。作为世界上最大的生物技术公司，该集团为疾病的早期发现、预防、诊断和治疗提供了创新产品和服务，在改善人类健康和生活质量的各

个方面都做出了大量贡献。罗氏公司是体外诊断的世界领先公司，是治疗癌症和器官移植所需药物的领先供应者，也是病毒学的市场领导者，并活跃在其他主要的治疗领域，如自身免疫性疾病，炎症，代谢及中枢神经系统。2007 年该集团药品部的销售总额为 368 亿瑞士法郎，诊断部的销售额为 93 亿瑞士法郎。罗氏公司与众多的合作伙伴签订了研发协议并结成战略联盟，包括在美国基因技术公司（Genentech, Inc.）和日本中外制药株式会社（Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.）拥有多数股权，2007 年研发投入达 80 亿瑞士法郎。罗氏集团的全球员工总数约 8 万。如需了解更详细的信息，请访问 [www.roche.com](http://www.roche.com)。



# 赛默飞世尔举办高端产品客户技术交流会

2008年10月24日-26日，赛默飞世尔科技实验室产品部在美丽的太湖之滨无锡举办了高端产品客户技术交流会。来自全国科研单位，医院，高校的近150位专家出席了此次盛会。

本次会议我们荣幸请到了来自中国疾控中心的马学军研究员，农科院的黄三文研究员，广东医学院张海涛教授，北大医学部的李敏教授，上海中医药大学刘成海教授，上海大学邓小勇教授等知名专家就荧光化学发光技术以及高内涵技术在病毒诊断、基于植物基因的分选育种以及抗肿瘤药物的研发等各种应用中的重要地位和作用等作了一系列报告。来自睿智化学的许煜洲博士，中科院的代焕琴博士等更是向与会人员详细介绍了 Thermo Scientific Multidrop 和 Thermo Scientific Kingfisher 在他们的日常研究中起到的积极作用。赛默飞世尔科技实验室产品部的高莹、俞立超，细胞成像亚太区经理 Blake Cesarin 分别做了“现代荧光和化学发光技术在微孔板检测中的应用”；“专利的 KingFisher 磁珠纯化技术的新应用”；和“让每个细胞说故事的科研新手段-高内涵技术”。来自全国的专家，老师们对高内涵筛选系统在多领域研究中的巨大作用产生了浓厚的兴趣。

此次会议全面展示了 Thermo Scientific 微孔板类仪器及高内涵技术在各个研究领域的解决方案。这些解决方案包括：

- 用于各种细胞血清学分析、生长因子、细胞因子、细胞毒性和细胞增值分析的 Multiscan FC 最新型酶标仪。广泛用于各种细胞生物学的分析。

- 应用于试验体系开发，初级和次级筛选，化合物储存等各环节的 Multidrop 自动分液器，

是目前进行精确和快速分液的最佳解决方案，并可与机械臂系统兼容实现更高通量。

- 可轻轻松松从样品中高通量分离 DNA/RNA，蛋白质和细胞的 KingFisher Flex 全自动磁珠提取纯化系统

此次客户技术交流会不仅向广大学者、专家展示了不同研究领域的最新进展，更是通过数位专家日常研究案例的交流，让所有的参会者全面、深入的了解赛默飞世尔的实验室产品在研究中起到的事半功倍的效果，得到了所有与会者的一致好评，也为今后的合作奠定了良好的基础。



赛默飞世尔科技实验室产品部无锡高端产品客户技术交流会

关于赛默飞世尔科技

赛默飞世尔科技有限公司 (Thermo Fisher Scientific Inc.) (纽约证交所代码: TMO) 是全

全球科学服务领域的领导者，致力于帮助客户使世界变得更健康、更清洁、更安全。公司年度营收达到 100 亿美元，拥有员工 33,000 多人，为 350,000 多家客户提供服务。这些客户包括：医药和生物技术公司、医院和临床诊断实验室、大学、研究院和政府机构以及环境与工业过程控制装备制造商等。该公司借助于 Thermo Scientific 和 Fisher Scientific 这两个主要品牌，帮助客户解决从常规测试到复杂的研发项目中所面临的各种分析方面的挑战。Thermo Scientific 能够为客户提供一整套包括高端分析

仪器、实验室装备、软件、服务、耗材和试剂在内的实验室工作流程综合解决方案。Fisher Scientific 则提供了一系列用于卫生保健，科学研究，以及安全和教育领域的实验室装备、化学药品以及其他用品和服务。赛默飞世尔科技将努力为客户提供最为便捷的采购方案，为科研的飞速发展不断地改进工艺技术，并提升客户价值，帮助股东提高收益，为员工创造良好的发展空间。欲获取更多信息，请浏览公司网站：[www.thermo.com](http://www.thermo.com)（英文），[www.thermo.com.cn](http://www.thermo.com.cn)（中文）。