

GE Healthcare
Life Sciences

生命科学园

GE Healthcare 在生命科学上的最新进展

2012 年 4 月 第 34 期

抗体片段的自动纯化

用于 SPR 研究的标签蛋白的
自动纯化

让 GE 引领您走入高内涵分析的
世界

IN Cell Analyzer 2000
分析干细胞克隆

利用荧光探针标记
转载体底物开发筛选系统

使用蓝片获得的快速
化学发光结果





2012 年 4 月 第 34 期

[全文下载](#)

生命科学园愿为您提供各类最新技术信息，以帮助您达到研究目的。我们感谢您的关注和参与。欢迎投稿，告诉我们您对本刊的意见，建议及评论。

反馈有奖

请E-mail至
Lsmarketing@ge.com
或致电
800-8109118

目录

创新论坛

蛋白纯化和生产

SPR 研究中使用 ÄKTAexpress™ 进行的重组标签蛋白的多步骤纯化 3-5

结晶实验中使用 ÄKTAexpress™ 进行人源化 WO-2 Fab 的多步骤纯化 6-7

高内涵细胞分析

让 GE 引领您走入高内涵分析的世界 8-9

IN Cell Analyzer 2000 分析干细胞克隆 10-11

利用荧光探针标记转运转载体底物开发筛选系统 12-13

技术提示

30 分钟内完成简化的手动抗体纯化 14

用于蛋白质显像的蓝片的比较性能 15

新信息

我们的最新产品和服务的详细内容 18-23

SPR 研究中使用 ÄKTExpress™ 进行的重组标签蛋白的多步骤纯化

L. Pearce¹, R. J. Hosse², J. Simon³, and O. Dolezal¹

¹ CSIRO Molecular Science and Engineering, Melbourne, Australia

² Roche Glycart AG, Schlieren, Switzerland

³ GE Healthcare, Uppsala, Sweden

我们通过 ÄKTExpress 系统在大肠杆菌裂解物中纯化了重组标签 DnaseE7 和 NC10 scFv-Im7，在利用表面等离子体共振 (SPR) 技术而开发新的蛋白质捕捉检测中使用了这些蛋白。一步法被无人操作的多步骤法所取代，其中包括多种层析技术：亲和力 (IMAC 或定制的亲和层析 [AC] 柱)、脱盐 (DS)、离子交换层析法 (IEX) 以及凝胶过滤 (GF)。在低 pH 值缓冲液中过夜渗析的步骤成功地被在相同缓冲液中 DS 步骤所取代，自动化进行纯化。这些方法，加上操作员预先定义的 UV₂₈₀ 峰收集参数，使我们能够快速并稳定地纯化重组标签蛋白。

引言

细菌毒素大肠杆菌毒素 E7(DnaseE7) 的核酸酶域和其同源伴侣免疫蛋白 7(Im7)，具有极高的结合亲和力，接近 10^{-14} M (1)。

我们已经阐明了 Im7 和 DnaseE7 之间的自然高亲和力相互作用以开发用于捕获蛋白质 -Im7 融合的基于 SPR 的系统 (2)。通过标准的胺类耦合法将 DnaseE7 固定于生物传感器芯片表面，为 Im7 蛋白质融合的定向捕捉提供了稳定的表面 (图 1)。在此过程中，NC10 scFv-Im7 的 Im7 部分与 DnaseE7 紧密结合，使 scFv 与其抗原特异性地结合 (3-2G12 Fab: NC10 的抗独特型 Fab 片段)。scFv-Im7 的捕获可以被容易的移除，并且整体的捕获 / 抗原结合试验具有高度重复性，200 多个周期后捕捉能力基本无损耗 (2)。

本文描述了 ÄKTExpress 在 DnaseE7 和 scFv-Im7 蛋白质的简化多步纯化中的使用。

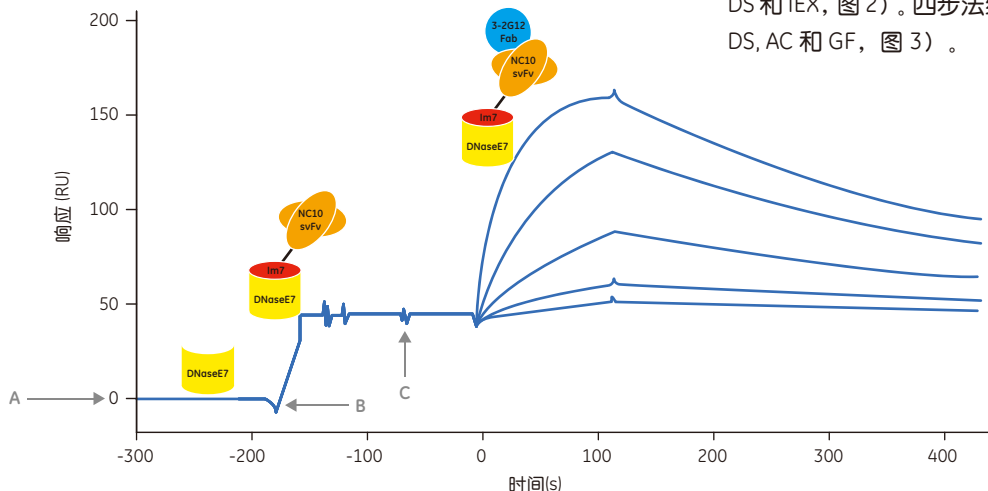


图 1. NC10 scFv-Im7 在 DnaseE7 传感器表面的高亲和性捕获检查法。叠加和部分处理的 SPR 结合传感图包括: A) 含有胺耦合的 DnaseE7 (3651 RU) 的生物传感器芯片表面; B) 注射和捕获 NC10 scFv-Im7 融合蛋白导致抗体片段定向固定; C) 注射和 3-2G12 Fab (NC10 的抗独特型 Fab 片段, 0.333、1、3、9 和 27nM) 与捕获的 scFv 的结合。如前所述 (2)，用 10mM, pH 值 2.0 的甘氨酸再生 DnaseE7 捕获表面 (此处未显示)。

方法

重组质粒

如前所述，将编码细菌大肠杆菌毒素 E7 核酸域 (伴有一个 N 端六组氨酸标签，DnaseE7 的 447-573 残基) 和 IM7 蛋白的 DNA 序列克隆到 pQE30 中 (3)，并在大肠杆菌 M15 (REP4) 中表达。对 pGC (2) 中编码 NC10 scFv-Im7 的 DNA 序列进行了修饰，可以容纳串联 C 端 FLAG™ (Sigma-Aldrich 公司) 和六组氨酸亲和纯化标签。产物在大肠杆菌 TOP10F' (Invitrogen 公司) 中表达。

大肠杆菌裂解物的制备

用离心法收集的细菌细胞颗粒在湿颗粒重量为 10ml/g 的细胞提取液中重悬浮。细胞提取液中包含 20mM 磷酸钠、500mM NaCl、10mM 咪唑和 2mM MgCl₂, pH 为 7.4。为了在细胞破碎之前促进细胞裂解并降低粘度，我们添加了 0.25mg/ml 的溶菌酶和 0.0025U/μL 的核酸酶 (Novagen 公司)。裂解液通过 EmulsiFlex™ -C5 细胞破碎机三次 (Avestin, 15 000PSI/4°C)，48300×g、4°C 条件下离心 15 分钟。样品上样前，澄清的裂解液通过 5μm 针头式过滤器进行过滤。

定制的亲和层析柱

根据制造商的说明书，先前描述的 (4) 抗 -FLAG (DYKDDDDK) 单克隆抗体 (鼠 IgG1/κ, 41mg, 8.25mg/ml) 通过使用注射器进行再循环在室温下偶联 5ml 的 HiTrap™ NHS-活化 HP 柱 50 分钟。

标签蛋白的纯化

利用空气传感器的启用上样功能，用 ÄKTExpress 纯化来自大肠杆菌培养液的澄清裂解液。三步法纯化 (His)₆-DnaseE7 (IMAC, DS 和 IEX, 图 2)。四步法纯化 NC10 scFv-Im7-FLAG-(His)₆ (IMAC, DS, AC 和 GF, 图 3)。

结果与讨论

三步法纯化标签 DNaseE7

来自大肠杆菌细胞表达的六组氨酸标签 DNaseE7 与 Im7 形成的复合物的可溶性裂解液使用 ÄKTAexpress 中预先编程的三步色谱法进行纯化 (图 2)。样品首先通过 HisTrap™ HP1ml 柱从污染的大肠杆菌蛋白中来迅速捕捉标签蛋白复合物。用 250mM 咪唑分级梯度法洗脱捕获的蛋白质。一个 3.9ml 的峰 (峰 1, UV₂₈₀>50mAU) 被收集到一个中间毛细血管样。

在以前的报告中 (3), 过夜透析步骤 (20mM 甘氨酸, pH 值为 3) 被用来打破 DNaseE7 和 IM7 之间的紧密连接。要自动化这个纯化步骤, 我们用低 pH 值脱盐步骤取代透析, 两种 DNaseE7 和 IM7 复合物的蛋白质的脱盐显示为 13.4ml 的单峰 (峰 2, UV₂₈₀> 25mAU), 收集到中间毛细血管样。

将变性后的复合物自动注射到 HiTrap SP HP 1ml IEX 层析柱, 分离脱盐后的 DNaseE7 (PI 10.91) 和 IM7 (PI 4.21)。SDS-PAGE 法收集、汇总、分析馏分 (UV₂₈₀>30mAU, 峰 3) 用于纯度分析 (图 2, 插图); 产量被确定为 12ml 液体里含 13.7mg 的 DNaseE7。Im7 域仍然与离子层析柱结合, 中性 pH 值条件下用磷酸钠缓冲液手动洗脱 (数据未显示)。

A) IMAC

层析柱 HisTrap HP, 1ml
结合缓冲液 20mM 磷酸钠, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑, pH 7.4
洗脱缓冲液 20mM 磷酸钠, 500mM 氯化钠, 500mM 咪唑, pH 7.4
流速 1ml / 分钟
梯度 分级梯度, 50%、10CV 洗脱缓冲液

B) DS

层析柱 HiPrep™ 26/10 Desalting, 53ml
结合缓冲液 20mM 甘氨酸, pH 3.0
流速 10ml / 分钟

C) IEX

层析柱 HisTrap HP, 1ml
结合缓冲液 20mM 甘氨酸, pH 3.0
洗脱缓冲液 20mM 甘氨酸, 2M 氯化钠, pH 3.0
流速 1ml / 分钟
梯度 线性梯度, 20%-50%、10CV 洗脱缓冲液

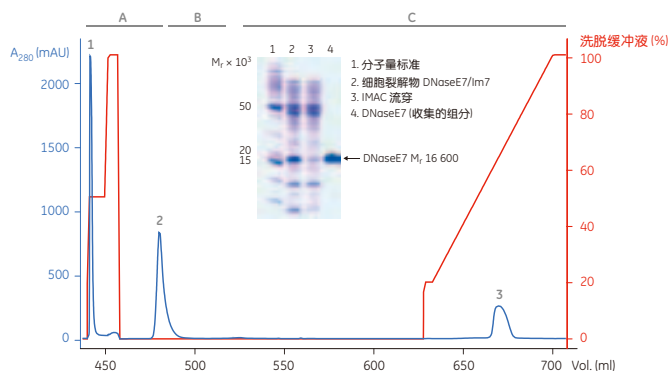


图 2. DNaseE7 的三步自动纯化。峰值数字在文中进行了描述。插图显示 SDS-PAGE 结果。

双标签的 NC10 scFv-Im7 的无人值守的四步纯化法

利用四种不同的色谱技术, 在 ÄKTAexpress 上纯化含有 NC10 scFv-Im7-FLAG-(His)₆ 的澄清裂解液 (图 3)。最初用 5ml HisTrap FF 柱捕获蛋白, 并用 250mM 咪唑分级梯度法洗脱。峰 1 (UV₂₈₀>100mAU) 的最大允许量 (7.5ml) 被收集到一个中间毛细血管循环。自动选择峰值然后注射到 1 HiPrep26/10 脱盐柱, 1xPBS 缓冲液与蛋白质进行交换。脱盐单峰 (峰 2, UV₂₈₀> 50mAU) 被收集到两个中间毛细血管样, 然后自动注射到自定义的亲层析柱 (抗 -FLAG IgG 偶联 HiTrap NHS- 活化 HP, 5ml)。从亲和层析柱洗脱之前, 检测到三个小峰 (峰区 3); 这些对应着 HisTrap FF 捕获的不与抗 FLAG IgG 结合的蛋白。从亲和层析柱洗脱下来尖峰 (峰 4, UV₂₈₀>100mAU), 收集到毛细血管样。立即用 1xPBS、5CV 缓冲液清洗以中和亲和层析柱。

A) IMAC

层析柱 HisTrap FF, 5ml
结合缓冲液 20mM 磷酸钠, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑, pH 7.4
洗脱缓冲液 20mM 磷酸钠, 500mM 氯化钠, 500mM 咪唑, pH 7.4
流速 5ml / 分钟
梯度 分级梯度, 50%、10CV 洗脱缓冲液

B) DS

层析柱 HiPrep 26/10 Desalting, 53ml
结合缓冲液 1xPBS, pH 7.5
流速 10ml/min

C) AC

层析柱 HiTrap NHS- 活化 HP, 偶联 5ml 抗 -FLAG IgG
结合缓冲液 1xPBS, pH 7.5
洗脱缓冲液 20mM 甘氨酸, pH 2.5
流速 5ml/min
梯度 1 100%、50CV 洗脱缓冲液
梯度 2 0% 洗脱缓冲液, 5CV 再中和抗体柱

D) GF

层析柱 HiLoad™ 16/600 Superdex™ 200pg, 120ml
结合缓冲液 1xPBS, pH 7.5
流速 1.5ml / 分钟

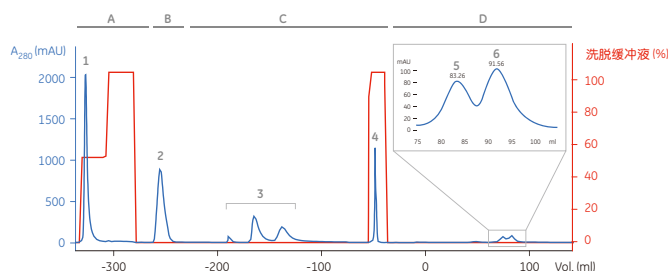


图 3. 四步法自动纯化双标签 NC10 scFv-Im7。峰值数字在文中进行了描述。插图: 放大的峰 (5 和 6) 分别显示蛋白质的二聚体和单体形式。

AC 步骤收集的峰由 GF 纯化。收集对应于 NC10 scFv-Im7 蛋白质二聚体和单体形式的两大峰 (峰 5 和 6, UV₂₈₀>5mAU)。通过 SDS-PAGE 对组分进行分析以评估纯度 (数据未显示) 和产量。得到 1.1mg 蛋白质二聚体 (峰 5), 1.6mg 的蛋白质单体 (高峰 6)。

结论

利用 ÄKTAexpress，自动的多步法成功地替代了单步蛋白质纯化法。为了从 DNaseE7/Im7 复合物中将 DNaseE7 从 Im7 纯化出来，我们成功地用 DS 法取代了低 pH 透析法，将纯化时间从三天减为一天，同时使纯化自动化。为了纯化双标签的 NC10 scFv-Im7，使用了可以自动纯化 scFv 单体和二聚体的定制的 AC 法而不是 IEX 法。此处使用 IEX 法会在最后 GF 步骤限制我们只能选择多个峰里的单个峰。

在这项研究中纯化的蛋白质被用来展示新的蛋白质捕获系统用于基于 SPR 的研究，显示出了高特异性、重复性捕获 (>200 次)、定向固定、基线稳定、再生条件温和，并且试剂成本低的特点 (2)。

参考文献

1. Cramer, W. A. *et al.* The best offense is a good defense. *Nat. Struct. Biol.* **6**,295–297 (1999).
2. Hosse, R. J. *et al.* Kinetic screening of antibody-Im7 conjugates by capture on a colicin E7 DNase domain using optical biosensors. *Anal. Biochem.* **385**, 346–357 (2009).
3. Ko, T. P. *et al.* The crystal structure of the DNase domain of colicin E7 in complex with its inhibitor Im7 protein. *Structure* **7**, 91–102 (1999).
4. Nuttall, S. D. *et al.* Utilization of the *Streptoalloteichus hindustanus* resistance determinant ShBle as a protein framework: Effect of Mutation upon ShBle dimerization and interaction of C-terminal displayed peptide epitopes. *J. Pr. Ch.* **18**(8), 813–821 (1999).

订购信息

产品	货号
ÄKTAexpress Single chromatography system	28-9089-36
HisTrap HP, 5x1ml	17-5247-01
HisTrap FF, 5x5ml	17-5255-01
HiPrep 26/10 Desalting column, 1x53ml	17-5087-01
HiTrap SP HP, 5x1ml	17-1151-01
HiTrap NHS-activated HP, 1x5ml	17-0717-01
HiLoad 16/600 Superdex 200pg, 1x120ml	28-9893-35

For More information on purification of tagged proteins using ÄKTAexpress system, visit www.gelifesciences.com/akta or www.gelifesciences.com/protein-purification



结晶实验中使用 AKTExpress™ 进行人源化 WO-2 Fab 的多步骤纯化

L. Pearce¹, R. J. Hosse², J. Simon³, and O. Dolezal¹

¹ CSIRO Molecular Science and Engineering, Melbourne, Australia

² Roche Glycart AG, Schlieren, Switzerland

³ GE Healthcare, Uppsala, Sweden

ÄKTExpress 是一个适合自动纯化从大肠杆菌裂解物中得到的低表达的组氨酸标签蛋白的色谱系统。一个纯化法设计整合 4 中层析技术（亲和、脱盐、离子交换和凝胶过滤 [尺寸排阻色谱法]），无需操作员干预。由此产生的蛋白质，人源化的 WO-2 Fab 抗体片段，一天时间内就可以高度纯化，随后结晶过夜。这些结果表明，使用 ÄKTExpress 将单个纯化方法纳入多步色谱技术，可以简化蛋白质纯化步骤。我们可以减少我们的蛋白质生产流程中的瓶颈，并在两天内将大肠杆菌裂解物中的蛋白质转换成蛋白质晶体。

介绍

阿尔茨海默氏症是老年痴呆症的最常见的形式。β-淀粉样蛋白 (Aβ) 肽（氨基酸 39-43）由淀粉样蛋白前体裂解产生，是淀粉样蛋白斑（1）的主要组成部分之一，因此也是阿尔茨海默氏病的免疫治疗的有效靶点。小鼠单克隆抗体，WO-2 (mWO-2 IgG) 与免疫抗原 Aβ 肽 (3EFRH6) 结合。小鼠抗体片段 (mWO-2 scFv 和 mWO-2 Fab) 来自 mWO-2 IgG 并与 Aβ 肽 (3EFRH6) 抗原抗体结合，并在体外抑制纤维的形成和分解已沉积的淀粉样纤维（2）。为了克服潜在的人抗鼠抗体 (HAMA) 反应——HAMA 通常会妨害鼠抗体的药物治疗作用，我们设计了人源化的 WO-2 Fab (hWO-2 Fab)。hWO-2 Fab 片段在大肠杆菌中表达，使用 ÄKTExpress 进行多步纯化后结晶，解决了蛋白质结构（3）。与 mWO-2 类似，hWO-2 Fab 成功地抑制了淀粉样纤维的形成和分解已沉积的淀粉样纤维，是一种很好的阿尔茨海默氏病治疗药物。

材料和方法

基因结构、蛋白表达和纯化

为了构建人源化的 WO-2 Fab，鼠源性 WO-2 IgG 抗体的互补决定区 (CDR) 被嫁接到最匹配的人类生殖序列 (V_H, IGHV2-5*09 和 V_L, IGLK2-28*01)。在以前建造的大肠杆菌表达载体 pGC-Fab 中，人源化合成的 V_H 和 V_L 基因与相应的人类重链 (C_{H1}) 和轻链 (C_L) 基因片段融合，分别在 C_{H1} 和 C_L 的 C-末端编码六组氨酸和 FLAG™ (Sigma-Aldrich) 的纯化标签（2）。如前所述，产物 hWO-2 Fab 在大肠杆菌 TOP10F' 细胞中表达（3）。使用冰冷的 1×TES 缓冲液（200mM 的 Tris-HCl, pH 值 8.0, 0.5mM 的 EDTA 和 500mM 的蔗糖）和 0.2×TES 缓冲液从颗粒性大肠杆菌细胞中连续提取周质提取物（4）。周质提取物通过离心（4°C，

30 分钟，48 400×G）和 0.45μm 滤膜过滤后澄清。上样前将咪唑（20mM）加入到裂解液中。

利用空气感应器启用 ÄKTExpress 上样功能；使用一种自动化的、整合四种不同层析步骤的方法进行纯化，从 10L 升大肠杆菌培养液中纯化得到共 900ml 的周质裂解液。

A) 亲和力 IMAC

层析柱 HisTrap™ FF crude, 5ml
结合缓冲液 20mM 磷酸钠, 500mM 氯化钠, 20mM 咪唑, pH 7.4
洗脱缓冲液 20mM 磷酸钠, 500mM 氯化钠, 500mM 咪唑, pH 7.4
流速 5ml/min
梯度 分级梯度, 50%、10CV 洗脱缓冲液

B) 脱盐 DS

层析柱 HiPrep™ 26/10 Desalting, 53ml
结合缓冲液 20mM 醋酸钠, 20mM 氯化钠, pH 5.5
流速 10ml/min

C) 离子交换色谱法 (IEX)

层析柱 HiTrap™ SP HP, 1ml
结合缓冲液 20mM 醋酸钠, 20mM 氯化钠, pH 5.5
洗脱缓冲液 20mM 醋酸钠, 1M 氯化钠, pH 5.5
流速 1ml/min
梯度 线性梯度, 0%-10%、50CV 洗脱缓冲液

D) 凝胶过滤 GF

层析柱 HiLoad™ 16/600 Superdex™ 200pg, 120ml
洗脱缓冲液 1×PBS, pH 7.4, (50mM Tris-HCl, 150mM 氯化钠, pH 7.4)
流速 1.5ml/min
胶块 2ml

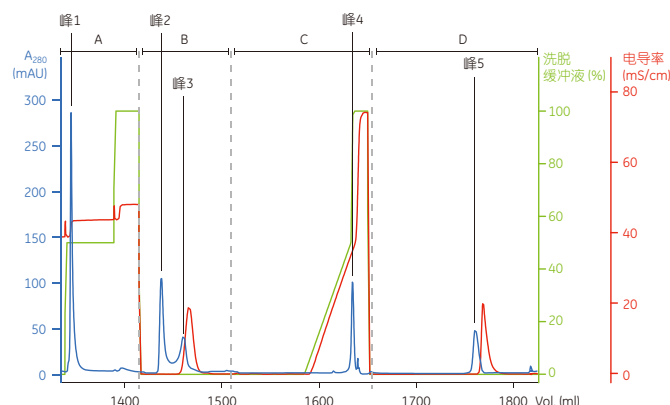


图 1. hWO-2 Fab 的自动化四步纯化。四个纯化步骤分别为：A) IMAC, B) DS, C) IEX, 和 D) GF。5 个目的峰如图所示，在结果和讨论部分进行描述。



图 2. ÄKTAexpress 纯化后 hWO-2 Fab 的典型结晶，使用 20% PEG 3350 和 0.2M 硫酸钠进行结晶。

结果与讨论

在 ÄKTAexpress 上进行纯化

为了纯化 hWO-2 Fab，制备含重组蛋白的大肠杆菌细胞周质裂解液，直接上样到一个 5ml 的 HisTrap FF crude 柱，通过固定金属亲和层析 (IMAC) 从污染的大肠杆菌蛋白中捕获 hWO-2 Fab (图 1)。清洗后，用分级梯度的 250mM 的咪唑洗脱捕获蛋白质，峰 1 (3.5ml, 从峰前缘 $UV_{280} > 50$ MAU 下降，截止峰后缘 > 100 MAU) 收集到毛细管样 1。自动选择的峰值 (最大) 进入下一层析步骤 (中间脱盐步骤)，使用 HiPrep 26/10 Desalting 将缓冲液与 pH 值为 5.5 的 20mM 醋酸钠和 20mM NaCl 交换，峰 2 时回收 (8.4ml, $UV_{280} > 20$ MAU) 到毛细管样 2 和 3。脱盐阶段的第二个峰 (峰 3) 对应的分子量低于 5000 的降解产品。

将脱盐的 hWO-2 Fab (pI 8.0) 进一步纯化加入 HiTrap SP HP 1ml 阳离子交换柱中，然后在梯度为超过 0% 至 50% 下使用 50 多个柱体积 (峰 4; 3.2ml; $UV_{280} > 30$ MAU) 的 20mM 醋酸钠、1M 氯化钠 (pH 5.5) 进行离子交换。峰被自动注入到 HiLoad 16/600 Superdex 200pg 凝胶过滤柱，作为最终的精细纯化步骤。组分 (峰 5, $UV_{280} > 20$ MAU) 被收集到 96 孔馏分收集器中贮存。hWO-2 Fab 的产量确定为 1.15mg (7.3ml at 0.16Mg/ml)。

结晶研究

使用 Ultrafree™ 离心机 (MWCO 10000, Millipore 公司) 将蛋白质浓缩至 4mg/ml 以用于结晶研究。在联邦科学与工业研究组织合作的结晶中心 (www.csiro.au/c3/) 进行结晶。

h-WO2 Fab 的典型晶体如图 2 所示。最大尺寸为 300μm。从生长在 20% 聚乙二醇 3350 和 0.2Mol 硫酸钠中晶体中收集数据。晶体在聚乙二醇 1500 与其他盐类中也会生长。所有晶体都生长在 293K、SD-2 沉滴板 (IDEX 公司, Santa Rosa, 美国)。液滴由 150nl 蛋白和相当于 50μL 结晶贮存液的 150nl 结晶组成。在 Australian Synchrotron 解决 hWO-2 Fab 的结构，原子分辨率为 0.22nm (PDB: 3AAZ)。

结论

ÄKTAexpress 色谱系统适合开发自动化的多步法，用来纯化大肠杆菌裂解液中低表达的重组标签蛋白。使用多步法可以对用于结晶研究的纯化蛋白质的质量提供更好的控制和可重复性。hWO-2 Fab 的最终产量是 1.15mg，量虽然低 (培养液 0.1Mg/l) 但是纯度高，并保留功能获刑。随后蛋白质过夜结晶。

使用 ÄKTAexpress 两天内就能将蛋白裂解液变为蛋白质晶体。

参考文献

- Kang, J. et al. The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* **325**, 733–736 (1987).
- Robert, R. et al. Engineered antibody intervention strategies for Alzheimer's disease and related dementias by targeting amyloid and toxic oligomers. *Protein Eng. Des. Sel.* **22**(3), 199–208 (2009).
- Robert, R. et al. Germline humanization of a Murine Aβ antibody and crystal structure of the humanized recombinant Fab fragment. *Protein Science* **19**, 299–308 (2010).
- Instructions: Recombinant Phage Selection Module, GE Healthcare, 27-9403-01, Edition AD (2003).

订购信息

产品	货号
ÄKTAexpress Single chromatography system	28-9089-36
HisTrap FF crude, 5x5ml*	17-5286-01
HiPrep 26/10 Desalting column, 1x53ml	17-5087-01
HiTrap SP HP, 5x1ml	17-1151-01
HiLoad 16/600 Superdex 200pg, 1x120ml	28-9893-35

* Also available in 100x5ml pack size, code number 17-5286-02

For More information on purification of tagged proteins using ÄKTAexpress system, visit www.gelifesciences.com/akta

让 GE 引领您走入高内涵分析的世界

GE Healthcare 一直是高内涵分析领域的领先者，从 IN Cell Analyzer 1000 到最近推出的 IN Cell Analyzer 6000，GE Healthcare 不断创新，开发出高内涵分析的硬件、软件、细胞学试剂服务平台和生物信息学整合工具，为客户带来最新的技术体验。IN Cell Analyzer 是市场上最多功能的 HCA 产品之一，在模块性、完整性和易用性方面尤为突出。它曾获得 2007 Frost & Sullivan 技术创新奖。

GE Healthcare 的高内涵分析平台主要有两款：IN Cell Analyzer 2000 和 IN Cell Analyzer 6000。IN Cell Analyzer 2000 全自动荧光显微镜型细胞高内涵成像分析系统以大功率高亮度长寿命金属卤素灯为荧光光源，有着硬件和软件的独特组合，能够非常快速地获取图像，是筛选的理想选择。而最新一代的高端产品 IN Cell Analyzer 6000 激光共聚焦高内涵细胞成像分析系统将高质量激光光源、可变光阑共聚焦和高内涵细胞成像分析相结合，使高速度和高质量细胞图像获取和分析达到统一，为客户提供了快速而精准的细胞技术分析平台。它可以满足要求更高的高内涵分析和筛选。

IN Cell Analyzer 2000



IN Cell Analyzer 2000 可实现从显微观察到自动化筛选，以及细胞器、细胞、组织和整个生物体的成像。它有着硬件和软件的独特组合，能够非常快速地获取图像，是筛选的理想选择。该仪器是利用六西格玛原理来设计的，结构坚固，能确保它在多用户环境中高通量应用的可靠性。

与普通显微镜相比，IN Cell Analyzer 2000 的成像速度极大提高。如果每个孔取一个视野，双色荧光，Hoechst 染细胞核，EGFP 标记细胞器，硬件自动聚焦，IN Cell 2000 可以在约 3 分钟内对整块 96 孔板成像，在短短几分钟内得到将近 200 张照片。另外虽然不是共聚焦高内涵仪器，但 IN Cell 2000 独有的去卷积图像复原功能可以显著提高图像的对比度和分辨率，提供可与共聚焦图像媲美的高质量图像。

此外，IN Cell 2000 还具有预览扫描功能。它可在任何放大倍数下对任意区域进行预览扫描，帮助了解样品概况，确定感兴趣的区域和视野的分布，如果需要，可以对整个微孔板或者整张盖玻片进行预览扫描。而独有的整孔成像对干细胞克隆分析、肿瘤学的克隆形成试验以及斑马鱼胚胎发育研究都不可或缺。

IN Cell Analyzer 6000



若您既希望成像速度快，又希望图像质量好，那么 IN Cell 6000 则是不二之选。它是以激光为光源的可变光阑线扫描共聚焦高内涵仪器，拥有专利的光学系统，成像完全可调：光阑完全打开时成像速度最快，完全共聚焦模式去除背景最有效，您可以针对不同的需求调节共聚焦程度，在图像质量和成像速度之间找到最适合自己的平衡。IN Cell 6000 的可变光阑线扫描共聚焦是一种新的共聚焦方法，是 GE 的专利技术，既显著提高了成像速度，pinhole 的大小又是可调的，因而适用于全系列物镜，即使用 10X 物镜成像时也可以达到很好的去除杂信号的效果。另外，IN Cell 6000 感光成像采用 550 万像素新一代 sCMOS 相机，噪音比 CCD 相机低五倍，超高灵敏度并缩短曝光时间，比标准相机的视野大四倍。

IN Cell 6000 将全自动成像推广到一些很难进行高通量检测的样品和实验。过去一些通常由低通量共聚焦技术完成的实验，如 3D 结构成像、低丰度内源生物分子成像、蛋白共定位等，现在可由 IN Cell Analyzer 6000 实现高通量检测。

软件也不容忽视

随着高内涵分析系统的不断升级，信息量日渐丰富的同时数据量也在不断增大，因此数据分析软件也必须功能强大且得心应手，才能更加准确地测定基于形态学和荧光标记的细胞特征参数。此外，科研用户检测的指标复杂多样，除了基本的模块式分析工具，还需要有更强大的分析软件允许用户自定义分析程序。

因此，IN Cell Investigator 数据分析软件包含三个级别的分析工具：预设常规分析工具、MTA 导向式多目标分析工具、Developer 自定义分析工具。这三级工具使用同样的图形用户界面（GUI）和分析流程，方便从简单分析到复杂分析的转换。预设的常规分析有九种：质膜转位分析、核质转位分析、神经突生长分析、颗粒形成分析、目标荧光强度分析、细胞周期分析、双重区域目标分析、形态学分析、微核分析。Developer Toolbox 曾获得 2006 年全球最佳生物图像分析软件奖（美国知名科学杂志《Scientific Computing》颁发）

IN Cell Investigator 还内嵌和 Spotfire DecisionSite 软件连接的图标，轻松使用数据可视化分析工具，快速对大量的数据进行分析和处理，并可以做出报告或与他人分享结果，做出决策。

高内涵实验的数据量比较大，这就需要有数据管理软件来帮助使用者，IN Cell Miner HCM 可以轻松完成这样的使命。IN Cell Miner 以经过验证的 EMC Documentum 软件为基础，可以方便地注释、建档、检索、存储高内涵图像和数据。研究机构的所有使用者可以分享和比较数据，最大限度地挖掘和实现这些数据的价值。快速制做精美的数据图，用于工作展示、技术交流和文章发表。

生命科学中的广泛应用

高内涵技术最初应用于药物筛选，随着技术的进步和发展，近年来在生命科学研究中得到了广泛的应用，包括细胞信号通路，肿瘤学，神经生物学，免疫学，传染病学，干细胞的研究等等。很多实验用高内涵平台来完成，比现有的方法更灵敏，通量更高，成本更低，结果更准确和可靠。

在传统的药筛应用领域，中国医学科学院药物研究所、中科院上海药物所，军事医学科学院毒物药物研究所都在使用 IN Cell 平台进行药物筛选；而在基础研究领域，中科院生物物理研究所，医科院药生所、生工所等也都在使用 IN Cell 平台。

下面我们将会针对高内涵在干细胞研究和针对转运载体蛋白的药物开发中的应用详细给大家介绍 IN Cell 平台的强大功能。

IN Cell Analyzer 2000 分析干细胞克隆

关键词：◇干细胞 ◇克隆分析 ◇成像细胞分析仪 ◇IN Cell Analyzer 2000 ◇整孔成像

前言

通过干细胞研究，可以加深对于各种疾病的理解，获得有关治疗方法的知识。干细胞具有分化成各种类型细胞的能力（全能性），其分化潜在在很大程度上依赖于培养条件。为了优化培养条件，有必要在多孔板中进行研究。

在这方面，全自动荧光显微成像细胞分析仪可以高效工作。贴壁细胞不需要消化分离；不仅能够从各个细胞获得荧光强度的信息，还能获得形态信息；可以检索数据得到定位信息；还能根据形态信息区别未分化的细胞及分化的细胞。

干细胞通常生长为致密的克隆，Oct-4 是干细胞特异的分子标志，用 Oct-4 抗体检测干细胞克隆。使用多孔板进行克隆分析时，试验人员既不希望视野边缘分割克隆，也不希望遗漏频率低的克隆，因此需要仪器能够一次整孔成像。

本文介绍使用 IN Cell Analyzer 2000 进行干细胞克隆分析实例，IN Cell Analyzer 2000 将大芯片 CCD 相机与 2 倍物镜（0.1 NA）组合起来，能够以高通量进行全孔拍摄。全自动分析包括：自动识别饲养细胞与干细胞克隆，细胞计数、克隆计数、克隆中细胞数量的统计，还能对处于有丝分裂中的 M 期细胞进行识别。

使用的产品

- IN Cell Analyzer 2000 Large Camera System
- 用于获取细胞图像（配置大芯片 CCD 相机）
- IN Cell Investigator Software，图像分析软件
- IN Cell Analyzer 2000 2x0.1 NA 物镜

样本及试剂

- 干细胞及饲养细胞 *
- Hoechst
- 荧光标记抗 Oct4 抗体
- Texas red 标记抗 phospho-histone H3 抗体

* 数据由加州大学 Irvine 分校干细胞研究中心的 Peter Donovan 博士提供。

※ Hoechst 是对细胞核进行染色的荧光试剂。荧光标记抗 Oct4 抗体是针对干细胞分子标记 Oct4 特异性抗体，用于识别干细胞。Texas red 标记抗 phospho-histone H3 抗体是针对细胞分裂时磷酸化组蛋白 H3 特异性抗体，用于检测有丝分裂细胞。

实验方法

96 孔板培养的干细胞克隆及饲养细胞被荧光染色和固定。细胞核用 Hoechst 进行染色，干细胞用荧光标记抗 Oct4 抗体染色，有丝分裂中（M 期）的细胞用 Texas red 标记抗 phospho-histone H3 抗体染色。详细的实验流程及培养条件，参照以下论文。

Elliott, A. et al., Identifying Genes Differentially Expressed Between PGCs and ES Cells Reveals a Role for CREB-Binding Protein in Germ Cell Survival. *Dev Biol.* 311 (2), 347-358 (2007). Pyle, A.D. et al., Neurotrophins mediate human embryonic stem cell survival. *Nature Biotechnology*, 24, 344-350 (2006).

结果

使用 IN Cell Analyzer 2000，通过 2 倍物镜（0.1NA）及大芯片 CCD 相机进行全孔成像（图 1）。96 孔板的孔径直径为 6.5 mm，方形视野尺寸为 7.6 mm。使用分析软件 IN Cell Investigator Software (Developer toolbox)，根据 Hoechst 的图像，自动识别全部细胞，根据 Oct-4 的图像，自动识别干细胞克隆。能够进行总细胞数的计数、克隆计数及克隆中细胞数的计数（图 2）。

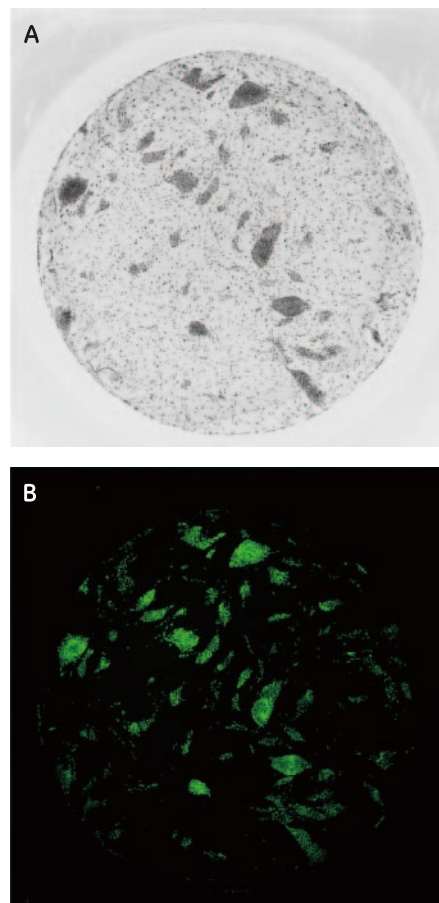


图 1. 96 孔板中的干细胞克隆及饲养细胞的全孔图像。（A）Hoechst 图像（干细胞克隆及饲养细胞）；（B）Oct4 图像（干细胞克隆）。

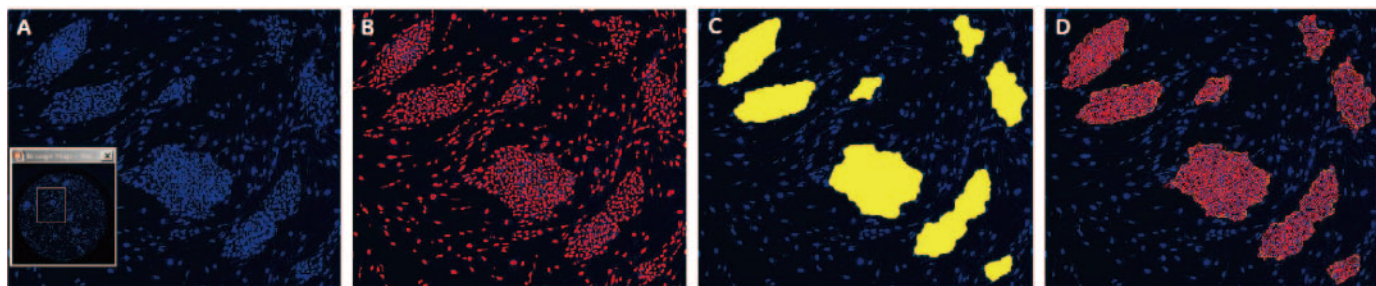


图 2. 干细胞克隆及饲养细胞的图像分析。(A) Hoechst 图像 (干细胞克隆及饲养细胞)；左下方窗口显示全视野，放大显示的位置用白框表示；(B) 根据 A 的图像识别细胞核 (用红色标记)；(C) 根据 Oct4 的图像识别克隆 (用黄色标记)；(D) 将 B 与 C 结合，识别克隆中的细胞核 (克隆用黄框圈选，细胞核用红色圈选)。

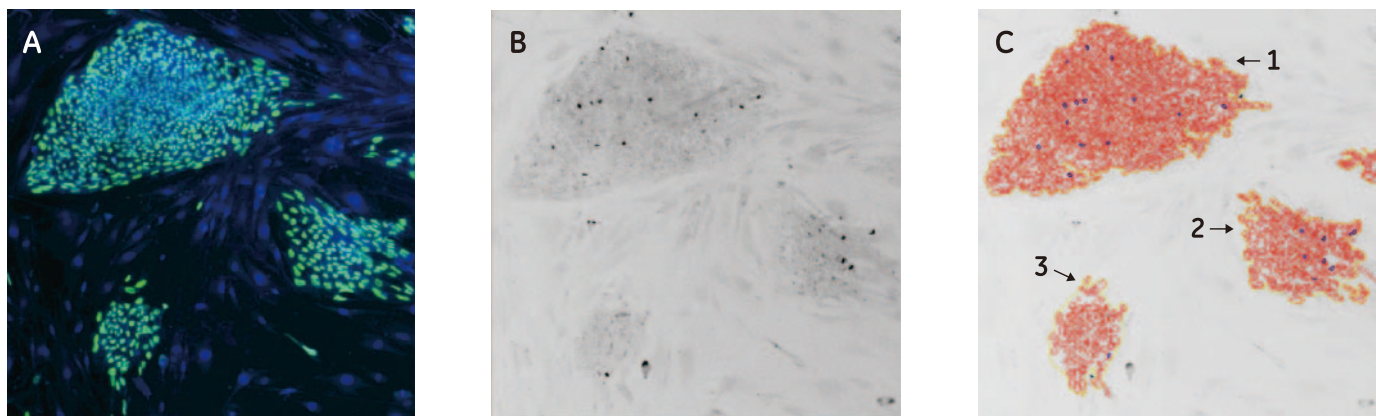


图 3. 克隆中 M 期细胞的识别。(A) Hoechst (蓝), Oct4 (绿)；(B) phospho-histone H3 (黑)；(C) 图像识别后的结果。克隆 (黄)、细胞 (红)、M 期细胞 (蓝)。

另外，通过磷酸化组蛋白 H3 的免疫染色，能够对有丝分裂的细胞进行计数 (图 3)。使用成像细胞分析仪，不仅能够进行细胞、克隆的计数，还能对其形态进行评价。与图 3C 中 1、2、3 所示的克隆有关的结果，在一览表中显示 (表 1)。即使是通过目视很难识别的密集克隆，也能进行细胞核的计数以及 M 期细胞的检测。

表 1. 克隆分析结果 (与图 3 所示的克隆 1、2、3 相关的数据)

克隆编号	1	2	3
每克隆细胞数	650	131	72
每克隆 Oct-4 阳性细胞数	649	133	67
每克隆 Oct-4 阳性细胞比例 (%)	99.8	101.5	93.1
每克隆 M 期细胞数	13	4	1
每克隆 M 期细胞比例 (%)	2	3.1	1.4
克隆面积 (μm^2)	214092	68028	38816
克隆周长 (μm)	2876	1616	1009
克隆圆度	0.33	0.33	0.48
克隆平均直径 (μm)	264	177	122
克隆最大直径 (μm)	444	305	199

总结

- IN Cell Analyzer 2000 可自动获取干细胞的荧光图像。
- 使用 2 倍物镜 (0.1NA) 及大芯片相机，可以进行 96 孔板的整孔成像。
- 使用 2 倍物镜，不仅获得大视野，其分辨率也能满足单细胞计数的需要。
- 可以测定克隆中的细胞数及克隆中的稀有事件 (如 M 期细胞)。

利用荧光探针标记转运载体底物开发筛选系统

关键词：◇抗肿瘤药物 ◇荧光底物 ◇成像 ◇OATP1B3 ◇快速筛选

前言

有机阴离子转运多肽（OATPs）属于钠非依赖性有机阴离子转运载体，在肝脏、肾脏、肠、脑等各种器官确认有表达，与胆汁酸、甲状腺激素、类固醇结合物、阴离子性低聚肽、类二十烷酸、药物、其它外源性化合物的细胞膜转运相关。

OATP1B3（LST-2/OATP8）属于 OATPs 肝特异性亚家族成员之一，特异性分布于肝细胞基底外侧（窦状）质膜上。与正常的肝脏相比，在胃癌、胰腺癌、结肠癌等消化器官实体瘤当中表达量很高。根据以上信息，通过识别 OATP1B3 吸收进入细胞内的药物，可能是更具疗效的癌化学治疗方法。

本文中，通过将细胞图像分析系统 IN Cell Analyzer 1000 与荧光探针组合起来，构建高通量筛选系统，尝试对通过 OATP1B3 进入细胞内的药物进行研究。

实验内容

将 OATP1B3 的过量稳定表达细胞系（HEK293）接种于 96 孔板中（ 8×10^3 细胞 / 孔）培养 24 小时。用 20 μ M Hoechst 33258（Sigma）进行 20 分钟的细胞核染色，清洗后，用 Krebs-Henseleit 缓冲液预孵育 10 分钟。荧光探针 7-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二唑标记的鹅去氧胆酸（CDCA-NBD）与 18 种抗癌药物或阳性对照溴磺酞钠（BSP）与细胞共孵育 20 分钟。然后，通过 IN Cell Analyzer 1000 获得图像，使用 Object Intensity 分析模块分析（图 1）。

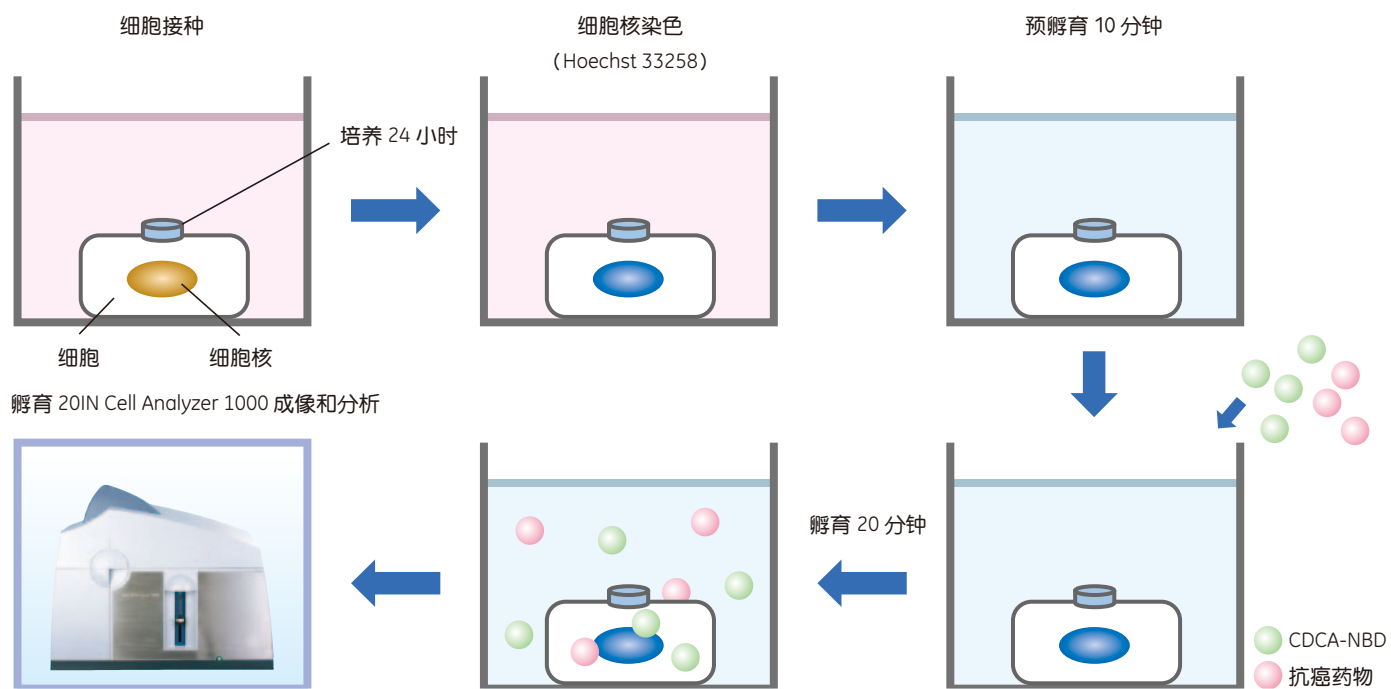
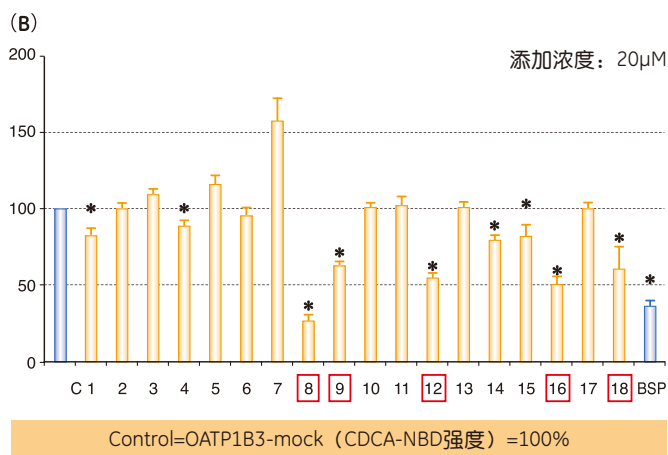
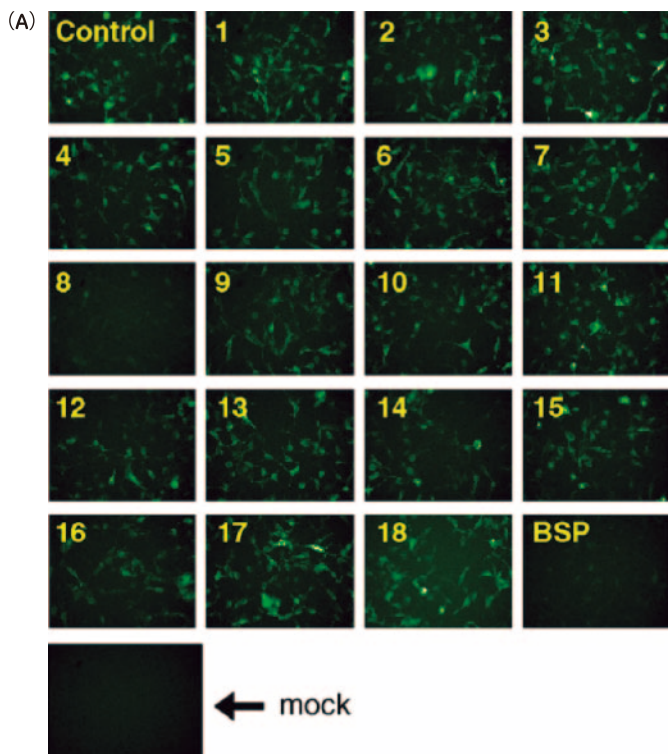


图 1. 荧光标记鹅去氧胆酸（CDCA-NBD）用于 OATP1B3 转运抗癌药物筛选系统概述。

结果

根据 IN Cell Analyzer 1000 获得的图像 (图 2A), 分析了 18 种抗癌药对 CDCA-NBD 的吸收抑制效应。结果, 确认了对 CDCA-NBD 有显著吸收抑制效应的 9 种抗癌药。(图 2B)。



C: 没有添加药物 (阴性对照)
 1: 5- 氟二氧嘧啶 2: 阿糖胞苷 3: 6- 巯基嘌呤
 4: 克拉屈滨 5: 长春花碱 6: 吉西他滨 7: 长春新碱
 8: 多烯紫杉醇 9: 放线菌素 D 10: 顺铂
 11: 2- 氟腺嘌呤-9- β -D- 阿拉伯糖苷
 12: 米托蒽醌 13: 喜树碱 14: 甲氨蝶呤 15: 丝裂霉素 C
 16: 紫杉醇 17: 伊立替康 18: SN-38 BSP: 溴磺酞钠 (阳性对照)

图 2. 抗癌药物对通过 OATP1B3 吸收 CDCA-NBD 的抑制效应

(A): 通过 IN Cell Analyzer 1000 获得的细胞图像 (绿: CDCA-NBD)
 (B): 18 种抗癌药物对于 CDCA-NBD 吸收抑制效应的比较
 通过 IN Cell Analyzer 分析模块 Object Intensity 进行分析 (*= $P < 0.05$)

对于抑制效应特别强的化合物 (多烯紫杉醇、放线菌素 D、米托蒽醌、紫杉醇、SN-38) 进一步研究表明, OATP1B3 表达细胞当中, SN-38 通过 OATP1B3 转运到细胞内。(表 1、这个结果不是通过 IN Cell Analyzer 1000 获得的。)

根据这些结果, 新识别了 SN-38 可以作为 OATP1B3 转运底物, 发现 SN-38 对于靶向抗癌药物到靶器官很有帮助。

表 1. OATP1B3 表达细胞对候选抗癌药物吸收的增加

OATP1B3 导致的转运的增强	
多烯紫杉醇	×
放线菌素 D	×
米托蒽醌	×
紫杉醇	×
SN-38	○

总结

通过 IN Cell Analyzer 1000 与荧光探针组合, 开发了新型药物筛选系统, 可以发现癌特异性高表达转运载体的新的转运底物。

基于细胞荧光图像分析的筛选系统, 除了可用于本报告中所述的着眼于转运载体的药物治疗方法的开发, 还可以应用于范围很广的筛选领域。

30 分钟内完成简化的手动抗体纯化

在抗体纯化中，速度和简化是最小化蛋白质的不稳定和变性的重要因素。使用预装 rProtein A、Protein G、rProtein A/Protein G GraviTrap™ 的重力流柱，可以在 30 分钟内从细胞培养液和生物体液中纯化出高达 50mg 的抗体。由于无需装填柱，因此预装柱模式可以确保实验之间较高的一致性并且节省时间。包装产品被转换到方便的实验室操作台，不需要仪器或其他复杂的设备来进行纯化。

简单的四步法

使用 GraviTrap 柱，可以通过一个简单的四步法实现手动纯化免疫球蛋白（图 1）。可广泛选择缓冲液，因为在 pH 7.0 左右时这些介质跟免疫球蛋白有广泛的高亲和力。为了实现有效的结合，应该在应用样品之前调节样品的 pH 值与结合缓冲液相同。

可靠的结合力和简单的洗脱

protein A 和 protein G 对抗体的结合强度取决于种源和特定 IgG 的亚类。GE Healthcare 因此提供了预填充三种（重组蛋白 A、蛋白 G 以及重组蛋白 A/ 蛋白质 G 的混合物）替代基于 Sepharose™ 柱介质的 GraviTrap 柱。通过快速动力学和高结合能力（20 至 50mg/ml），介质 rProtein A 和 protein G 均提供可靠的抗体纯化。抗体纯度往往达到 95% 以上，回收率通常在 70% 至 80%。用于抗体的 GraviTrap 柱可重复使用高达五次。

降低 pH 值可以洗脱 IgG。不同免疫球蛋白在不同 pH 值下洗脱，这取决于抗体物种和特定亚类。因此，建议在洗脱缓冲液中添加中性缓冲液，用来保存酸性 - 不稳定的 IgG 的活性。

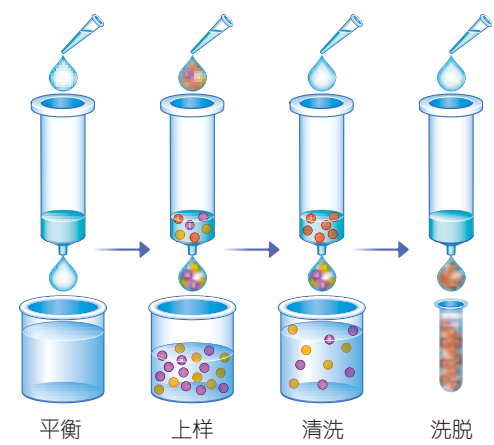


图 1. 使用 GraviTrap 柱进行手动四步法纯化抗体的步骤：平衡、上样、冲洗和洗脱。

应用

rProtein A/Protein G GraviTrap 柱被用来从 CHO 细胞（中华仓鼠卵巢细胞）的培养上清中纯化人类单克隆抗体。总的纯化时间为 26 分钟，回收率为 67%，经 SDS-PAGE 测定表明纯度高（图 2A）。

同样地，两个 rProtein A GraviTrap 柱被用于从血清中纯化兔抗山羊 IgG 抗体。纯化时间为 21 分钟，SDS-PAGE 电泳后显示高纯度（图 2B）。每根柱一次运行可以回收约 11mg 的纯化的兔 IgG。

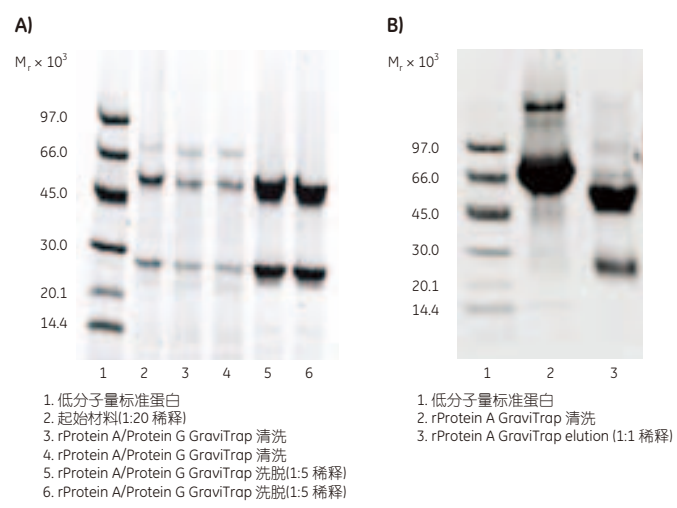


图 2. Deep Purple™ 染色的 SDS-PAGE 片段分析（还原条件下），A) rProtein A/ Protein G GraviTrap 柱纯化的人类单克隆抗体；B) rProtein A GraviTrap 柱纯化的兔血清的洗脱组分。

订购信息

产品	货号
rProtein A GraviTrap, 10×1ml	28-9852-54
Protein G GraviTrap, 10×1ml	28-9852-55
rProtein A/Protein G GraviTrap, 10×1ml	28-9852-56

For More information, visit www.gelifesciences.com/sampleprep



用于蛋白质显像的蓝片的比较性能

蛋白质研究中经常使用蓝片来获得快速和定性的化学发光印迹结果。蓝片的灵敏度低于 Amersham™ Hyperfilm™，但在许多筛选中应用已经足够。初步实验使用蓝片后，通常在最终阶段再使用更高质量的膜来确认初步结果并生成出版级的图像。

Amersham Hyperfilm Blue 是一种蓝色的感光底片用于在不同的印迹分析中检测化学发光信号。我们在 GE Healthcare Life Sciences 实验室进行了 Amersham Hyperfilm Blue 和其他供应商的相应的产品的比较性能评估。我们发现，Amersham Hyperfilm Blue 在较短的曝光时间内可以提供更好的灵敏度。

转铁蛋白印迹检测

为了演示 Amersham Hyperfilm Blue 的性能，我们对大肠杆菌中表达的 2 倍稀释转铁蛋白系列进行蛋白印迹，从 2.5ng 开始减少到 0.6pg；使用 2 张替换蓝片，分别是来自 Thermo Scientific 的 CL-Xposure Film 和来自 PerkinElmer 的柯达™ -OMAT™ Blue (XB) Film。使用 ImageQuant™ LAS 4010 将膜曝光 1 到 3 分钟前，我们使用 ECL™ Prime 蛋白印迹检测试剂检测转铁蛋白。

图 1 显示，1 分钟的曝光后，底片可以产生高达 9.8pg 的检测限。

图 2 比较了 1 分钟曝光时前四条转铁蛋白条带的强度。1 分钟曝光后，Amersham Hyperfilm Blue 底片比 CL-Xposure 底片和 Kodak X-OMAT 底片 (XB) 能更有效地检测到信号。

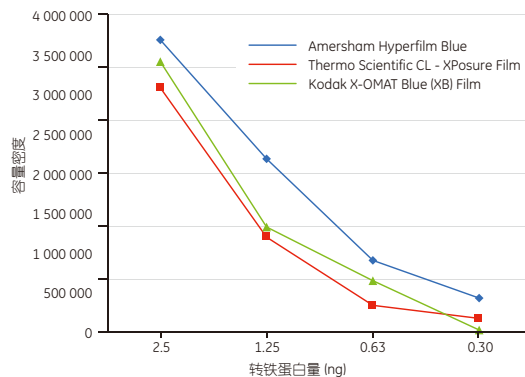


图 2. 使用 ImageQuant TL 7.0 软件计算的转铁蛋白前四条条带的容量密度，2.5ng 到 0.3ng。

结论

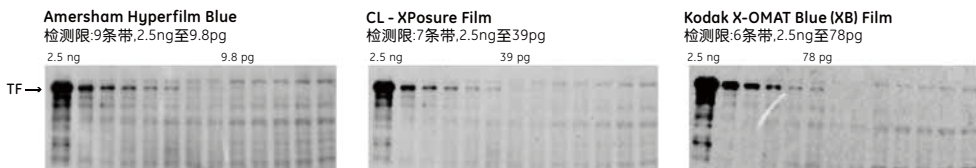
数据显示，1 分钟曝光后，Amersham Hyperfilm Blue 底片比 Thermo Scientific 蓝片和 PerkinElmer 蓝片更敏感。

订购信息

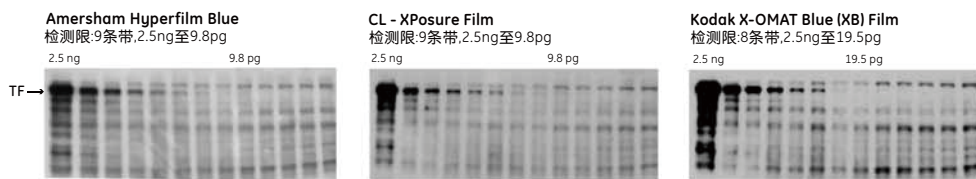
产品	货号
Amersham Hyperfilm Blue 5x7inches, 100 sheets	28-9888-22
Amersham Hyperfilm Blue 18x24cm, 100 sheets	28-9888-21
Amersham Hyperfilm Blue 8x10inches, 100 sheets	28-9888-20

For More information, visit www.gelifesciences.com/hyperfilm

A) 1 分钟底片曝光



B) 3 分钟底片曝光



C) 1 分钟底片曝光后 Amersham Hyperfilm Blue 的放大图

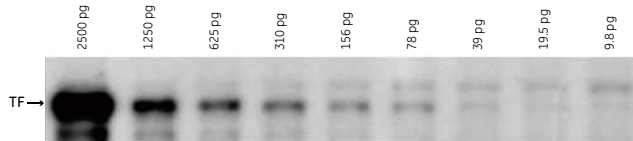


图 1. A) 和 B) 大肠杆菌中表达的 2 倍稀释转铁蛋白系列从 2.5ng 到 0.6pg 的蛋白印迹，分别是 Amersham Hyperfilm Blue、来自 Thermo Scientific 的 CL-Xposure Film 和来自 PerkinElmer 的柯达™ -OMAT™ Blue (XB) Film。ECL Prime Western Blotting 检测试剂检测转铁蛋白。底片曝光至膜上 1-3 分钟。C) Amersham Hyperfilm Blue 1 分钟曝光后的放大图片。Amersham Hyperfilm Blue 显示出较高的检测限，9.8pg。TF= 转铁蛋白。

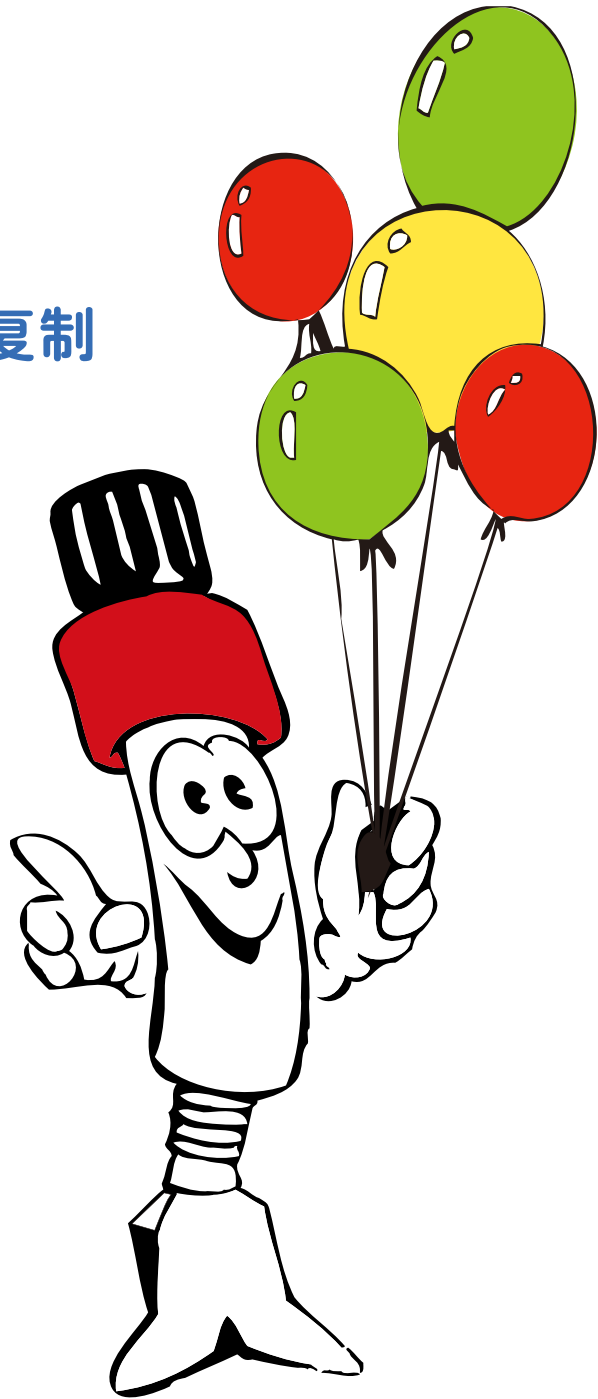
实验条件

样品上样	大肠杆菌中表达的 2 倍稀释转铁蛋白系列，起始量 2.5ng
凝胶	Invitrogen™ Novex™ 12% Tris-Glycine 凝胶，1.0mMx15 孔
标记物	High-Range Rainbow™ 分子量标记物
膜	Hybond™ LFP PVDF 转膜
阻滞剂	3% BSA
一抗	多克隆的兔抗人转铁蛋白 (Dako Cytomation)，1:4000 稀释
二抗	ECL 兔 IgG，HRP-Linkd 全抗体，1:40000 稀释
检测试剂	ECL Prime Western Blotting 检测试剂
检测底片	Amersham Hyperfilm Blue Thermo Scientific CL-Xposure Film Kodak X-OMAT Film (XB)
成像	ImageQuant LAS 4010

GE Healthcare
Life Sciences

HiTrap™ 二十年

——经常被模仿，从未被复制



imagination at work

GE, imagination at work, and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
HiTrap is a trademark of GE Healthcare companies.
© 2011 General Electric Company – All rights reserved.
GE Healthcare Bio-Sciences AB, Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden.

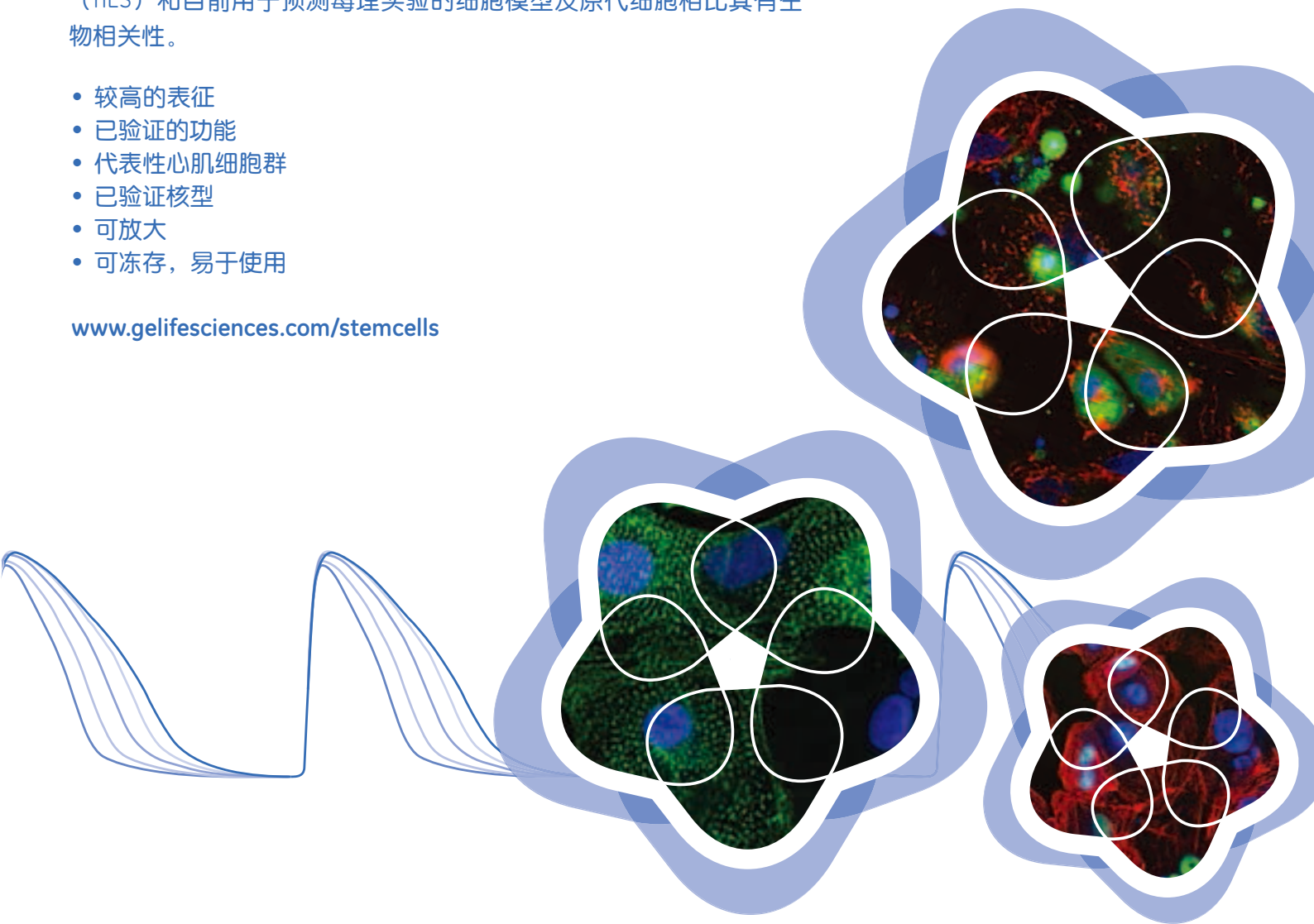
Cytiva™ 心肌细胞

相关性、可靠性、可信性
人体细胞模型安全筛选的新时代。

GE Healthcare Life Sciences生产的Cytiva心肌细胞源自人类胚胎干细胞（hES）和目前用于预测毒理实验的细胞模型及原代细胞相比具有生物相关性。

- 较高的表征
- 已验证的功能
- 代表性心肌细胞群
- 已验证核型
- 可放大
- 可冻存，易于使用

www.gelifesciences.com/stemcells



imagination at work



Ultraspec 三款新机 信赖如一

紫外 / 可见分光光度法已成为生命科学研究和开发中最常用的技术之一，适用于核酸、引物和蛋白等的分析测定。作为已进入该领域 20 多年的卓越供应商，无论您从事最基本的浓度测定、还是要求最精确的质量分析，通用电气医疗集团始终能为您提供一款适合您要求的分光光度计。

现全新推出三款双光束分光光度计产品，性能卓越、准确精密，品质值得信赖。

- > Ultraspec 7000/7000PC 是双光束的紫外 - 可见光分光光度计，用于满足繁忙实验室的日常需求。仪器结实耐用，运行成本低，拥有彩色大面积触摸屏、支持多用户检测并可选择数据输出方法。可选各种软件升级和附件，灵活可升级。
- > Ultraspec 8000/8000PC 双光束紫外 - 可见光分光光度计，用于在药典要求下满足重要质量控制、分析和研究实验室的要求，拥有安全用户登录功能，带宽仅 1nm，完全符合欧洲药典要求。
- > Ultraspec 9000/9000PC 双光束紫外 - 可见光分光光度计，是为高性能方法开发、质量控制、分析和研究实验室设计的一款高端分析仪器，完全符合欧洲药典要求。Ultraspec 9000/9000PC 拥有可变带宽功能，Datrys 软件的自定义计算工具支持方法开发。

更多详情请询当地销售代表或经销商。



HiTrap 家族的新产品

——HiTrap TALON crude

TALON superflow 是 Co^{+} 的金属整合介质，用于纯化重组 His-tag 蛋白 HiTrapProtein G HP 快速纯化非人源抗体的要求。

- > 适于所有 His-tag 蛋白的纯化
- > 高纯度，高回收率
- > 可以适于低浓度咪唑洗脱
- > 低的离子脱落
- > HiTrap TALON crude 柱可以直接使用细胞裂解的样品上样，不需要离心过滤，简化实验步骤

订购信息

产品	货号
HiTrap TALON Crude 5 X1ml	28-9537-66
HiTrap TALON Crude 5 X5ml	28-9537-67
His SpinTrap TALON 50X100ul	29-0005-93
His GravTrap TALON 10X1ml	29-0005-94



免疫蛋白印迹-新手册

免疫蛋白印迹也称为免疫印迹，是广泛接受和广泛使用的用于蛋白质检测和分析的技术。该方法基于通过抗体和固定在膜上的蛋白的特异结合构建抗体：蛋白质复合物并使用几种检测方法中的一种检测结合抗体。

新手册的目的是指导和激励初学者和专家成功地进行免疫印迹。该手册提供专业知识和支持，带领你了解从样品制备到检测和完整的免疫印迹工作流程。如下内容包含一步一步的蛋白印迹的工作流程，介绍了理论以及技术实践方面有用的提示和建议。对典型应用、方案和处方、故障排除以及免疫印迹的一些新方法的实例进行了描述。

在过去的十年中，不断完善的检测方法和软件使用免疫印迹可以进行定量分析，这本手册提供范例和方案来帮助你，并在你的免疫印迹实验中获得更多的定量数据。

免疫印迹 - 原理和方法加入了 GE Healthcare 的一系列不断更新的方法学手册，其中许多手册封面主题与免疫印迹相关，如样品制备或二维电泳。

The code number for ordering a printed copy of the handbook is 28-9998-97, or download the PDF at www.gelifesciences.com/handbooks



XK 实验室层析柱-改版再升级

XK 柱设计在低到中等压力下制备液相色谱（最高 5bar）以及工艺开发中的纯化放大。原本的 XK 系列的 M6 接头被改进的 1/16" 和 5/16" Valco 接头和可以更容易连接泵，ÄKTA 系统和其他层析系统的更长的管路取代，无需转换头。

除了更新接头外，也对 XK 柱的毛细管内径 (ID) 进行了改变，XK 16 和 26 柱改为 0.75mm，新的 XK 50 柱的新内径为 1.55mm。可以用新的代码订购层析柱（请参阅下面的订购信息）。

XK 空柱的特点和优点包括：

- > Plunger 设计使缓冲液能均匀分配和装填再现性
- > 分配器 QuickLock 机制设计方便柱操作和清洁
- > 接头直接连接层析系统
- > 针对敏感样品纯化具有冷却外壳

XK 空柱提供可靠和可重复性的分离。管材料为高硼硅玻璃，可以目测到介质床。层析柱由生物相容性材料制成，具有良好的化学耐受性。XK 柱的直径范围很广，适合许多不同的纯化需求。

订购信息

产品	货号
XK 16/20	28-9889-37
XK 16/40	28-9889-38
XK 16/70	28-9889-46
XK 16/100	28-9889-47
XK 26/20	28-9889-48
XK 26/40	28-9889-49
XK 26/70	28-9889-50
XK 26/100	28-9889-51
XK 50/20	28-9889-52
XK 50/30	28-9889-53
XK 50/60	28-9889-64
XK 50/100	28-9889-65

For More information, visit www.gelifesciences.com/protein-purification



HiScreen™ Capto™ HIC 过滤柱

HiScreen HIC 柱被设计用于方法优化和参数筛选。过滤柱是 GE Healthcare 工艺开发解决方案中的日益增长的平台产品的一部分。HiScreen HIC 柱预装两种不同的疏水层析介质 (HIC)。HiScreen 柱的较小的床体积减少了样品和缓冲液的消耗。

HiScreen Capto Phenyl (high sub) 适用于需要中至高疏水性层析介质初始和中间纯化步骤。预装介质的性能和选择性与 Sepharose™ 6 Fast Flow (high sub) 相似。较高的流速允许平衡、清洗和再生期间与 Capto Phenyl (high sub) 一起使用。

HiScreen Capto Butyl 用于要求低到中等疏水性的层析介质的初始和中间纯化步骤。Capto Butyl 经常在低浓度盐液中很有效。与丁酯配体的结合和洗脱机制与苯基配体不同，选择性也不同。Capto Butyl 与 Butyl Sepharose™ 4 Fast Flow 有相似的选择性和性能，但允许平衡、清洗和再生期间使用更高的流速。

Capto Phenyl (high sub) 和 Capto Butyl 现有 25ml 和 100ml 规格的实验室包装，更大的包装规格适合大规模纯化。

订购信息

产品	货号
HiScreen Capto Phenyl (high sub), 1x4.7ml	28-9924-72
HiScreen Capto Butyl, 1x4.7ml	28-9924-73
Capto Phenyl (high sub), 25ml	17-5451-01
Capto Phenyl (high sub), 100ml	17-5451-02
Capto Butyl, 25ml	17-5459-01
Capto Butyl, 100ml	17-5459-02

For More information on HiScreen prepacked columns, visit www.gelifesciences/protein-purification

HiScreen™ Capto™ Blue

HiScreen Capto Blue 预装用于人血清白蛋白 (HSA) 捕获、以及 HSA 融合蛋白、血液凝血因子、酶和实验室和重组蛋白纯化的 Capto Blue 亲和介质。Capto Blue 是一种高度化学性质稳定的层析介质，比 Blue Sepharose 6 Fast Flow 有更刚性的琼脂糖基质。这种情况下，允许使用更快的流速和更大的样本量。

HiScreen Capto Blue 的优点包括：

- > 高刚性的层析介质，允许流速高提高生产率
- > 耐受氢氧化钠可进行重复和有效的在位清洗 (CIP)
- > 低配体泄漏

HiScreen 预填充一系列层析介质并且设计用于方法优化和参数筛选。拥有较小的床体积 (4.7ml)，减少了样品损耗和缓冲液浪费。

Capto Blue 层析介质现有 25ml 和 500ml 规格的实验室包装，更大的包装规格适合大规模纯化。

订购信息

产品	货号
HiScreen Capto Blue, 1x4.7ml	28-9924-74
Capto Blue, 25ml	17-5448-01
Capto Blue, 500ml	17-5448-02

For More information on HiScreen prepacked columns, visit www.gelifesciences/protein-purification



HiLoad™ Superdex™ 层析柱-改版再升级

HiLoad Superdex 柱基于重新设计的 XK 实验室柱，预填充 Superdex 30 prep grade、Superdex75 prep grade 和 Superdex 200 prep grade 介质在制备规模下用于高分辨率的凝胶过滤。层析柱新的 1/16" Valco 接头和更长的管路改进了与 ÄKTA™ 层析系统的连接。这种改进的层析柱硬件设计不影响层析柱的纯化性能。

结合硬件的改进，HiLoad 柱被重新命名且有新的货号（请参阅下面的订购信息）。

HiLoad Superdex 过滤柱可提供：

- > 具有出色的分辨率和回收率的纯化
- > 重复性和根据大小进行的快速制备分离
- > 1/16" 接头方便连接 ÄKTA 系统
- > Superdex30 prep grade 介质用于多肽的精细纯化
- > Superdex75 prep grade 介质用于分子量约 70000 重组和天然蛋白，
- > Superdex200 prep grade 介质用于从聚合物、二聚体和污染物中分离单克隆抗体

16 或 26mm (320ml) 内径的 HiLoad Superdex 柱填充床高度均为 600mm。每个柱都填充专门的 Superdex prep grade 介质，介质由葡聚糖和高度交联的琼脂糖组成。对每个柱进行质量测试。葡聚糖组分和高度化学和物理稳定的琼脂糖结合的 steep 选择性可在流速为 50cm/h 时提供高分辨纯化。

订购信息

产品	货号
HiLoad 16/600 Superdex 30pg, 1x120ml	28-9893-31
HiLoad 26/600 Superdex 30pg, 1x320ml	28-9893-32
HiLoad 16/600 Superdex 75pg, 1x120ml	28-9893-33
HiLoad 26/600 Superdex 75pg, 1x320ml	28-9893-34
HiLoad 16/600 Superdex 200pg, 1x120ml	28-9893-35
HiLoad 26/600 Superdex 200pg, 1x320ml	28-9893-36

For More information, visit www.gelifsciences.com/protein-purification

ÄKTApurifier™ 10 和 100 plus

ÄKTApurifier 10 和 100 plus 是我们既定的一系列 ÄKTApurifier 层析系统的最新产品。对于 FPLC 纯化蛋白质和多肽、介质筛选、优化和放大，ÄKTApurifier 系统是一个非常灵活的工具。

ÄKTApurifier 10 和 100 plus 提供更大的方便，因为预先安装并预先测试了使用最广泛的自动化试剂盒。从一开始它就可以提供无故障的 FPLC 纯化、更高程度自动化和最少的安装时间。我们额外注意了流路，因此系统提供优化后的流速压力比、更高的性能、更高的自动化程度，同时不损失灵活性，如果需要仍然可以添加更多的组件。

与 ÄKTApurifier 和 ÄKTApurifier UPC 系统相同，ÄKTApurifier 10 和 100 plus 分别拥有 10 和 100ml/ 分钟的流量配置。新系统都装有用于三波长检测的监视器 UV-900 和 pH / 电导率联合监测器 pH/C-900。UNICORN™ 5 控制软件系统与本系统一起使用，为本系统提供了与其他的 ÄKTA 系统公认的已得到验证的控制软件。

ÄKTApurifier 10 和 100 plus 提供以下优势：

- > 方便的柱搜索 - 最多可以连接七根柱并顺序运行，无需人工干涉
- > 用两个开关阀门进行缓冲液自动筛选，支持四个入口
- > 出口阀允许收集流穿或更大容量的纯化样品
- > 100ml/ 分钟的版本配备样品泵 P-960 和进样阀可进行多样品和 / 或更大样品量的自动进样
- > 优化毛细管以提高性能和最小化背压
- > 使用柱夹具和柱支架可以轻易地连接使用多个小柱

订购信息

产品	货号
ÄKTApurifier 10 plus	28-9914-36
ÄKTApurifier 100 plus	28-9914-35

ÄKTApurifier 10 and 100 plus systems complement the existing range of ÄKTApurifier and ÄKTApurifier UPC systems, visit www.gelifsciences.com/akta for More details.



Whatman™ 指示型 FTA™ DMPK卡用于无色生物样品的生物分析

从现在起 Whatman™ 指示型 FTA™ DMPK 卡可在药代动力学和毒代动力学 (PK/TK) 的研究中用于收集和储存无色的生物样品。

Whatman™ 指示型 FTA™ DMPK 卡具有以下优点：

- **无色液体方便的可视化：**如色卡上看光斑一样来观察生物样本，如血浆、尿液、脑脊液、滑液和泪液
- **较低血量：**干血点 (DBS) 取样，每个样品只要求 10 到 20μl
- **无需冻融：**降低了潜在的分析物降解或结晶
- **室温储存：**节省干冰运输的成本

存储如 DBS 这样的样品的方法在整个药物发现和开发工艺中具有广泛的适用性。当流体只有有限的容积或收集到管中是个难题时，低至 10 到 20μL 的生物标本量是有用的。DBS 无需冻融，样品处理过程可以节省时间。此外，样品的处理和运输更安全 and 简单。

对于所有类型的卡，由此产生的干生物样品都可以在室温下存储和运输。进行分析时，使用自动或手动打孔器从卡中取下样品片，对感兴趣的化合物进行提取和分析。



订购信息

产品	货号
FTA DMPK-A IND Card, 100/pack	WB120222
FTA DMPK-B IND Card, 100/pack	WB120223
FTA DMPK-C IND Card, 100/pack	WB120224
FTA DMPK IND Starter Pack*, 45/pack	WB120225

* The Starter Pack consists of 15 of each card type to allow cost-effective trials.

For More information on the range of Whatman FTA DMPK products and a video tutorial, visit www.gelifesciences.com/dmpk

MicroCal™ VP-Capillary DSC 软件 2.0 升级

差示扫描量热法 (DSC) 是一种不需要使用标签或人工探头进行蛋白质稳定性研究的有力的分析工具。该技术确定打开折叠蛋白样品所吸收的热量，对其热稳定性和长期稳定的趋势进行测定。利用高灵敏 DSC 测量法的预测能力，可以迅速确定产生最佳稳定性的条件。MicroCal VP-Capillary DSC 系统所提供的自动化可以实现快速筛查大量样本，而基本不用手动操作。

新软件简化了实验设置，灵活设备调度，从而改善了工艺流程。这意味着资源和资产管理的更好的利用。自动化的数据分析和改良后的数据排序，减少了数据分析瓶颈问题。自动数据分析功能使这个阶段的一个典型实验处理时间从几天缩短到几小时。运行间自动的基线和缓冲液做扣除处理提供了更加一致的结果。

订购信息

产品	货号
MicroCal VP-Capillary DSC software 2.0 upgrade	28-9784-80

For More information, visit www.gelifesciences.com/microcal



Amersham™ ECL™ Gel 电泳系统

Amersham ECL Gel 和 Amersham ECL Box 组成了一个水平的微型凝胶系统用于高质量的蛋白电泳。凝胶与标准的 Laemmli 缓冲液兼容，允许复杂样品的重复性溶解，并与标准的蛋白质检测方案相符。凝胶促使蛋白质高效电转移，方便的整合到 Amersham ECL 蛋白印迹工作流程中。

ECL Gel Box 是一个水平电泳系统，样品上样简单、低缓冲液消耗以及缓冲液槽之间无泄漏风险。

Amersham ECL Gel 和 Amersham ECL Box 的主要优点是：

- 凝胶一致性高，能确保可重现的、高质量的结果
- 保质期长达 12 个月，是现成凝胶的最佳选择
- 稳健的凝胶，在下游的检测步骤中进行方便的处理不会损毁
- 使用和切胶所需的一切试剂物品都包含在 Amersham ECLGel 膜盒中
- 水平电泳系统提供开放的凝胶表面，“鸟瞰”式电泳跑胶



Amersham ECL Gel 有 15、10 和 2 孔的各种格式，可以是同质胶（10% 和 12%）或梯度胶（4-12%、8-16% 和 4-20%）。凝胶不包含十二烷基硫酸钠（SDS）（天然或者变性条件下蛋白质分析中都可以使用，取决于选择的运行缓冲液）。

For a Data file describing the product in greater detail, visit www.gelifesciences.com, open the Literature tab and type 28-9970-20.

PreDicator™ HIC 板

PreDicator™ 板为一次性的 96 孔板用于平行筛选介质和色谱条件，如纯化方案中的结合、清洗和的洗脱条件。使用专用的筛选板可同时筛选不同的层析介质，或者使用含一种介质的板进行更彻底的筛选。使用 PreDicator 板获得的数据与层析柱所得的数据具有很好的相关性，使得 PreDicator 板成为工艺操作条件初筛的极佳的工具。

PreDicator 的产品的范围现在扩展到用于疏水相互作用层析（HIC）的八个不同介质，所有介质都可以作为单一的介质板或组成 2 中不同的筛选板（低和高疏水性）用于同时对多种层析介质进行研究。

所有 PreDicator HIC 板都有两种不同的体积中：6μL 或 50μL。

更新后的辅助软件 v1.2，可以支持新的 PreDicator HIC 板。

For more information, visit www.gelifesciences.com/predictor



订购信息

产品	货号
SingleMedium filter plates, 4 × 96-well	
PreDicator Butyl Sepharose 4 Fast Flow, 6μl	17-0980-16
PreDicator Butyl Sepharose 4 Fast Flow, 50μl	17-0980-17
PreDicator Butyl-S Sepharose 6 Fast Flow, 6μl	17-0978-16
PreDicator Butyl-S Sepharose 6 Fast Flow, 50μl	17-0978-17
PreDicator Capto Butyl, 6μl	17-5459-16
PreDicator Capto Butyl, 50μl	17-5459-17
PreDicator Capto Octyl, 6μl	17-5465-16
PreDicator Capto Octyl, 50μl	17-5465-17
PreDicator Capto Phenyl (high sub), 6μl	17-5451-16
PreDicator Capto Phenyl (high sub), 50μl	17-5451-17
PreDicator Octyl Sepharose 4 Fast Flow, 6μl	17-0946-16
PreDicator Octyl Sepharose 4 Fast Flow, 50 μl	17-0946-17
PreDicator Phenyl Sepharose 6 Fast Flow (high sub), 6μl	17-0973-16
PreDicator Phenyl Sepharose 6 Fast Flow (high sub), 50μl	17-0973-17
PreDicator Phenyl Sepharose 6 Fast Flow (low sub), 6	17-0965-16
PreDicator Phenyl Sepharose 6 Fast Flow (low sub), 50μl	17-0965-17
Screening filter plates, 4 × 96-well	
PreDicator HIC screening high hydrophobicity, 6μl	28-9923-92
PreDicator HIC screening high hydrophobicity, 50μl	28-9923-97
PreDicator HIC screening low hydrophobicity, 6μl	28-9923-95
PreDicator HIC screening low hydrophobicity, 50μl	28-9923-98
Software	
Assist 1.2 Software package	28-9969-17
Assist, 1-User License v1.2*	28-9453-97

* Assist v1.2 also works with previous software versions 1.0 and 1.1

详细信息请与GE Healthcare China各办事处联系：

网址：www.gelifesciences.com.cn

邮箱：lifesciences@ge.com

咨询热线：800-810-9118 400-810-9118

香港

香港九龙旺角亚皆老街8号
朗豪坊办公大楼12楼
电话：(852)2100 6314
传真：(852)2100 6338

沈阳

沈阳市和平区和平北大街69号
总统大厦C座907室
电话：(024)22812468
传真：(024)22812121
邮编：110003

长沙

长沙市韶山北路139号
湖南文化大厦1905室
电话：(0731)412 9178-72427
传真：(0731)413 4257
邮编：410011

北京

北京经济技术开发区永昌北路1号
电话：(010)5806 8888
传真：(010)6787 3597
邮编：100176

青岛

青岛市香港中路9号
香格里拉中心办公楼2202室
电话：(0532)85729111转64300
传真：(0532)85719153
邮编：266071

厦门

厦门市厦禾路189号
银行中心1815-1816室
电话：(0592)2681280
传真：(0592)2681283
邮编：361003

上海

上海市浦东新区张江高科技园区
华佗路1号
电话：(021)3877-7888
传真：(021)3877-7449
邮编：201203

杭州

浙江省杭州市曙光路122号
世界贸易中心世贸大厦906室
电话：(0571)87970862
传真：(0571)87970860
邮编：310007

西安

西安市南大街30号
中大国际商务会馆606号
电话：(029)87203288
传真：(029)87203289
邮编：710002

广州

广州市天河区珠江新城花城大道87号
通用电气大厦10楼
电话：(8620)-38157777
传真：(8620)-38157797
邮编：510623

长春

吉林省长春市西安大路727号
中银大厦A座1605室
电话：(0431)8860 3166转67400
传真：(0431)8860 3167
邮编：130061

天津

天津市河西区马场道59号增1号
平安大厦B座16层A
电话：(022)5819 2830
传真：(022)8558 9060
邮编：300302

成都

成都市世纪城南路216号
天府软件园区D7号5层
电话：(028)62350500
传真：(028)85113284
邮编：610041

武汉

武汉市建设大道568号
新世界国贸大厦1座3115、3116室
电话：(027)6885 5731
传真：(027)8577 4677
邮编：430022

重庆

重庆市渝中区青年路38号
国贸中心28楼2809室
电话：(8623)6310 7006-72750
传真：(8623)6374 9398
邮编：400010

南京

南京市汉中路2号
金陵饭店世界贸易中心1258/1259室
电话：(025)84509386
传真：(025)84723600
邮编：210005

昆明

昆明市三市街6号
柏联广场写字楼1005室
电话：(86871)3157017
传真：(86871)3157289
邮编：650021

哈尔滨

哈尔滨市南岗区红军街15号
奥威斯发展大厦25层A座
电话：(0451)53009566转72300
邮编：150001

济南

济南市乐源大街150号
中信广场618房间
电话：(0531)86116900转67555
传真：(0531)86907134
邮编：250011

南宁

南宁市青秀区金湖路59号
地王国际商会中心47楼F-G
电话：(86771) 5593978
传真：(86771) 5592978
邮编：530022



imagination at work

©2011 General Electric Company-All rights reserved

2012年4月第一次印刷