



超微量DNA分析的金钥匙

超微量分光光度计
等温全基因组扩增



超微量分光光度计

SimpliNano微量分光光度计

SimpliNano是GE Healthcare最新推出的一款简单易用的微量分光光度计，可用于直接测量核酸和蛋白质的浓度与纯度(图1)。

SimpliNano采用一个内置的样品室，适用于各种常见的实验室化学品。因没有移动部件，该仪器可靠性强、操作简单，并且干净。SimpliNano采用固定的光程长度，因此不需要任何校准。它能够将体积低至1 μ L的液体直接滴加到样品室，因而无需使用比色皿或其他取样工具。测量完成后，样品可用移液管轻易地回收或将样品室擦拭干净，以供下次测量使用。

SimpliNano预设了一系列核酸和蛋白质定量测定方法，以图象显示波长扫描结果。SimpliNano自带显示屏，无需使用电脑，仪器可快速启动。



图1.SimpliNano是一款操作简单、维护量低的分光光度计，设计用于低量的核酸和蛋白样品的分析，此处显示了打印机选项。



图2.内置样品室可直接上样体积为1到5 μ L的样本。

SimpliNano为您提供以下优点：

- **样品处理简单：**内置样品室(图2)采用固定的光程长度设计，可直接添加或移除样本，无需校准光程。SimpliNano不包含任何移动部件，因而该仪器具有可重复使用并且维护量低的优点。
- **样本量低：**采用1到5 μ L的低体积样品测量，可减少样品损失且无需稀释。测量完成后，该样品可回收或擦拭干净。
- **内置基本生命科学方法：**在波长260nm时测量核酸浓度，在波长280nm时测量蛋白质浓度，并提供230/260和260/280的比值以测定样品纯度。可生成220nm到330nm的核酸波长扫描图和250nm到350nm的蛋白质波长扫描图。这些方法还包括波长320 nm和340 nm的背景校正选项。
- **仪器操作灵活：**既可以当作带有内置大屏幕的仪器独立进行快速测定，也可使用可选的Datrys软件在电脑上操作。
- **可选择数据输出类型：**通过USB数据线输出到任何合适的电脑、可供选择的内置打印机或者USB存储设备。
- **维护简单：**固定0.5mm光径，无需校正。

分析方法

核酸

SimpliNano可用于测量各种单位(μg/mL, ng/μL和μg/μL)的核酸浓度和纯度,也可用于校准稀释系数。

SimpliNano在屏幕上可同时显示单个吸光度值和吸光度比值(260/280和260/230)及样品浓度值。测量结果可用选配的机载打印机即刻打印。预先存储的方法还包括波长为320nm的背景校正选项。

您可以通过检测紫外光谱(波长为220-320 nm)进行杂交、PCR和测序研究或用于小量纯化的定量。

SimpliNano对双链DNA(dsDNA)在4到2500 μg/mL范围显示了极好的线性关系(见图3)。该线性动态范围大,重现性高,数据置信度高,方便您进行下一步工作。

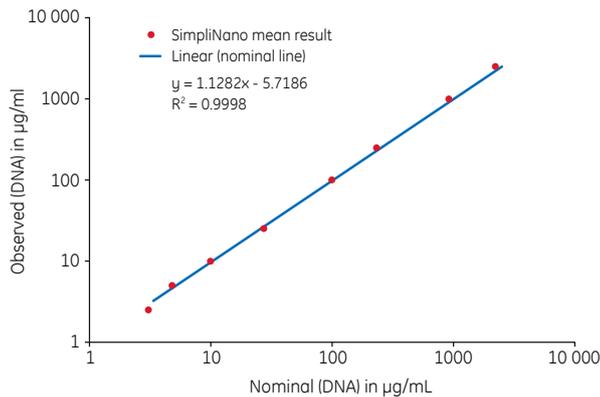


图3. 使用SimpliNano在260 nm波长测量10个相同鲑鱼精子双链DNA样本(体积为2 μL)生成的DNA浓度曲线(4到2500 μg/mL)。图中的数据是验证研究中一台仪器的代表数据,该研究共使用6台仪器。

蛋白质

SimpliNano可根据氨基酸中酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸的吸光性来测定近紫外光谱波长为280nm的蛋白质样品浓度。蛋白质测定方法显示了波长为260 nm和280 nm的单个吸光度读数,并提供波长为340nm的背景校正,和260/280的比值。由于蛋白质的氨基酸含量不同,不同蛋白质在280nm波长下的吸光度差异很大,因此必须测定特定蛋白质的吸光度值。

SimpliNano内置的牛血清白蛋白(BSA)、免疫球蛋白(IgG)和溶菌酶(Lysozyme)消光系数,可选择蛋白质样品最适合的消光系数进行测定,也可以自己输入特定蛋白的消光系数。图4显示了测定0.12至50 mg/mL蛋白质的线性关系。

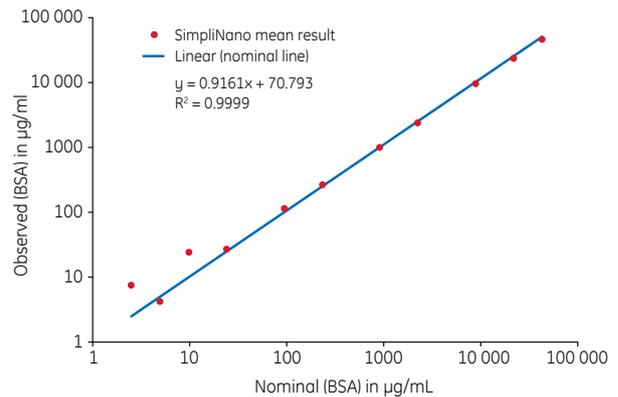


图4.从10%的BSA溶液中产生的BSA浓度曲线(120至50 000 μg/mL)。使用SimpliNano的BSA程序在280 nm波长测量10个相同样品(体积为2 μL)。该图的数据是验证研究中一台仪器的代表数据,该研究共使用6台仪器。

样品可用软纸轻易地擦拭干净以防止交叉污染,从而提高数据精度。使用高浓度的蛋白质(BSA)来测定样品残留,结果见图5

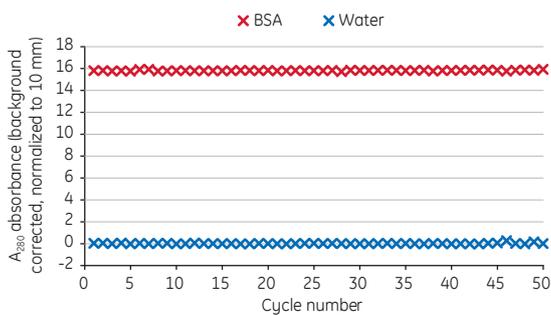


图5 循环次数

总结

SimpliNano微量分光光度计是一款易于使用、可靠性高的用于测量核酸和蛋白质样品的仪器,无需校正光程。SimpliNano可提供核酸和蛋白质的波长扫描图。体积为1到5 μL的样品可直接滴加到样品室进行测量,测量后可用吸管简单地回收。在样品不需要回收的情况下,样品室可快速简单地擦拭干净。无需使用比色皿、毛细管或其他取样工具--只需放入样品、测量,您的工作就完成了。

NanoVue Plus超微量分光光度计

NanoVue plus™是一款超微量紫外/可见光分光光度计(右图),能够以移液器点样的方式快速测量核酸、蛋白的浓度。每次测量所需要的样品量仅需0.5至5μl即可,直接将样品点于点样板上,无需比色杯或毛细管等附件。测量结束后,可以选择直接将样品擦去,或者再以移液器回收样品,所有步骤简单快速,一气呵成。

NanoVue plus™内置了多种预设的核酸、蛋白定量方法,包括了紫外检测法和染料结合检测法(Lowry, Bradford, BCA, and Biuret)。此外,连续波长的设计使您能够方便灵活地自定义检测方法并保存在仪器内。仪器配备了一块大面积蓝色背光液晶屏和操作面板,直接在仪器上进行设计和检测,无需额外配置电脑,可以节省实验室空间。仪器预热速度快,并且自带校准功能,因此您可以随时随地开展实验。



NanoVue Plus分光光度计为您提供

- **全新的疏水点样表面:** 把微量体积的样品直接点于点样表面即可直接测量,节省时间。疏水表面的设计使样品能够很容易被回收,并且有效避免多个测量间的样品交叉污染,提高测量的准确性。点样板为镀金材质,更耐磨损,并耐受多种试剂。
- **仅需微量体积样品:** 减少所需的样品消耗,并且无需稀释,0.5至5μL的样品体积即可完成测量。仪器可以自动设定测量所需的光径,也可以手动进行调整。
- **极快的检测速度:** 每个样品的测量时间基本都在5秒以内,而且您还节省了清洗比色杯的时间。
- **操作简易:** 在大面积高分辨率的背光液晶屏上显示所有的结果,包括标准曲线、波长扫描图像等,所有一切仅需几次的按键操作即可完成(图6)。甚至可以设置合上样品盖后无需按键即自动连续测量每个样品。
- **灵活的检测方式:** 除了常规的核酸蛋白定量以外,仪器还支持连续波长扫描,动力学分析,多波长测量和比率分析, CyDye标记的核酸探针定量,标准曲线制作等检测模式。
- **核酸扫描可视化功能:** 可以通过230nm和320nm的出峰情况直接判断核酸样品中是否存在明显的杂质,这对RNA样品的测定非常有用(图6D)。
- **多种数据输出方式:** 可通过选配的打印机直接连接至仪器打印测量数据,或者通过USB连线或无线蓝牙连接将数据传送至电脑上打印或保存。
- **更长的光学组件寿命:** Press-to-read仪器设定为按下检测键后才打开光源并读数,这样有效减少光源的工作时间,延长使用寿命。整体光学结构为固定设计,不会由于搬动仪器等原因造成光路的偏移。

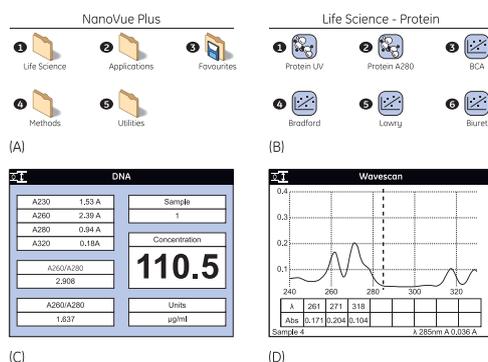


图6. NanoVue plus的显示屏(A)简单直观的应用选择界面;(B)蛋白定量方法选择界面;(C)DNA定量结果;(D)波长扫描图示

分析方法

核酸

NanoVue plus分光光度计可以以g/mL,ng/L,g/L,pmol/L,和pmol为测量单位检测核酸样品的浓度与纯度,在需要时也可以选择改变稀释因子。您可以只需微量体积,就能在色谱分离后的杂交、PCR和测序试验中以紫外波长(220至330nm)测定相关样品。仪器内置寡核苷酸引物的分析方法,只要键入寡核苷酸的序列(最多66个碱基),即可计算获得其转换因子(g/mL),分子量,理论吸光度(AU/ μ mol)和理论Tm值。对比NanoVue plus和其它公司同类产品的检测性能,可以看到无论对于DNA样品(图7),还是蛋白样品(图8),NanoVue plus的数据重复性都更高一筹。更宽的线性动态范围和更好的重复性让您在进入下一阶段的实验时,对已有的实验数据具有充分信心。

蛋白

NanoVue Plus内置了多种蛋白定量检测方法,包括Bradford,BCA,Lowry,Biuret和直接紫外法,最多可支持以27个标准样品(包括其重复)制作标准曲线。标准曲线可直接在液晶屏上显示,打印或保存至方法。

浓度测量

可以单点校正,多点校正法自选波长测量目标样品的浓度。

超微量分光光度计技术规格

	SimpliNano	NanoVue Plus
波长范围	190到1100nm	200至1100nm
光程长	0.5mm	0.2mm或0.5mm
最小样本体积	1 μ l	0.5 μ l
吸光度范围	-0.3到2.5绝对单位 (10mm相当于50绝对单位)	10 mm相当于125绝对单位 5nm
光谱宽度	5nm	氙灯
光源	氙灯	CCD阵列
探测器类型	CCD阵列	通过USB数据线(标准); USB存储卡(标准);
数据可输出至PC	通过USB数据线(标准); USB存储卡(标准);	内置打印机(可选)
尺寸	内置打印机(可选)	260 × 390 × 100mm
重量	260 × 390 × 100nm	<4.5kg
电源要求	大约3 kg 90到250 V, 50/60 Hz, 最大30 VA	90到250V, 50/60Hz, 最大30VA

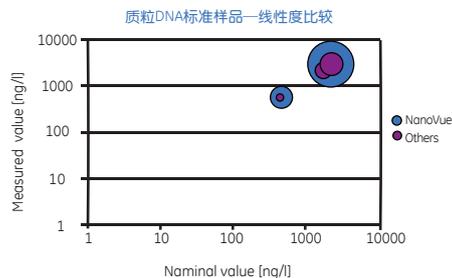


图7.使用质粒DNA的标准样品测试仪器的线性动态范围。质粒DNA被连续以6次的梯度稀释后分别以Nanovue plus和其它公司同类产品进行测量,每个样品在260nm下重复测量20次,图中圆圈的大小表示对应测量的2 \times 标准偏差(SD)

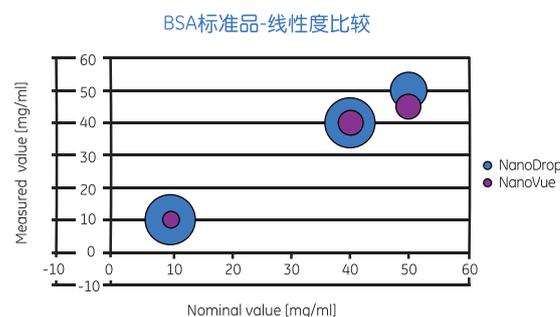


图8.使用BSA标准品测试仪器的线性动态范围。BSA标准品被连续以5次的梯度稀释后分别以NanoVue Plus和NanoDrop进行测量,每个样品在280nm下重复测量20次,图中圆圈的大小表示对应测量的2 \times 标准偏差(SD)

全基因组扩增

全基因组扩增(whole genome amplification, WGA)是一组对全部基因组序列进行非选择性扩增的技术,其目的是在没有序列倾向性的前提下大幅度增加DNA的总量。目前主流的技术包括滚环扩增技术(Rolling Cycle Amplification, RCA),多重链置换技术(Multiple-strand Displacement Amplification, MDA),简并寡核苷酸引物PCR(degenerate oligonucleotide primed PCR, DOP-PCR),引物延伸预扩增PCR(primer extension preamplification PCR, PEP-PCR)等。其中最具有代表性并基于等温扩增的方法是RCA和MDA。

采用TempliPhi和GenomiPhi DNA Amplification试剂盒进行DNA的扩增

采用TempliPhi进行环状DNA的扩增

illustra TempliPhi DNA Amplification试剂盒是GE Healthcare公司的新产品,其通过滚环复制的原理对单链或双链环状DNA进行指数扩增,如图9(8, 9)图解所示。扩增产物能够直接用于下游实验应用,如测序和分子克隆。TempliPhi DNA Amplification试剂盒提供滚环复制试剂专门用于优化环状DNA的扩增。反应利用改良的随机引物通过单步等温反应中的高持续,高精度扩增能力的Phi29 DNA聚合酶实现有效扩增。

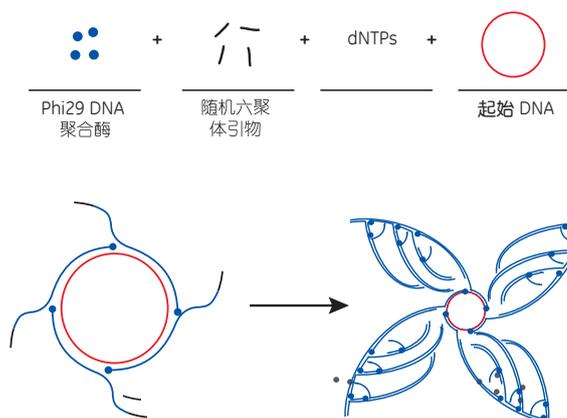


图9.图显示TempliPhi产品的滚环循环扩增方法。

在测序步骤中, DNA测序的质粒模板准备是最耗费时间的。目前的模板准备方法需要一定劳动强度和多步骤过程,需要24小时时间,最终得到质量和量有差异的DNA。TempliPhi™ DNA测序模板扩增试剂盒省去了测序前的细菌多步培养,并解放了目前制备方法在离心时和转移步骤中需要的人工。基于滚环扩增(RCA)技术和利用细菌噬菌体 ϕ 29 DNA聚合酶,该试剂盒可以在4小时内直接从单个菌落克隆得到2-3 μ g模板。

TempliPhi 扩增的起始材料可有许多不同的来源——少量包含质粒的细菌,一个分离的质粒分子,完整的M13噬菌体,或任何环状DNA(包括连接反应)都能得到有效的扩增。从琼脂平板上挑取细菌克隆,加入样本缓冲液中,加热时细胞释放质粒DNA分子。聚合酶直接加入到该原料中开始扩增反应。另外,亚微升量的饱和细菌培养液或甘油保存液亦可进行相同处理。依据起始原料的来源,等温扩增在30°C环境下经过4-18小时完成,而无需使用热循环仪。TempliPhi反应的产物是一种高分子量,双链,串联重复拷贝的环状模板。必须注意的是,当以M13克隆作为原料模板时, TempliPhi产物是双链DNA能够用正向和反向引物进行测序。通过TempliPhi方法进行扩增的DNA能够直接用于许多后续的实验应用包括环状测序反应,限制性酶切分析, DNA克隆以及取代超螺旋质粒DNA进行体外转录反应。illustra TempliPhi DNA Amplification 试剂盒用于直接制备环状DNA。illustra TempliPhi Large Construct DNA Amplification 试剂盒是专门设计用来制备大型DNA载体(如, fosmid和BAC)。illustra TempliPhi HT DNA Amplification 试剂盒则专门设计用来进行大通量的制备(超过1000preps/wk)。illustra TempliPhi Sequence Resolver 试剂盒则设计用来制备不同类型的DNA使之测序更加容易,从而解决大多数常见的测序问题,实现操作简单,步骤少且无需过夜培养。

从1-100pgDNA的起始材料, 4-6小时反应得到1-1.5 μ g(from 100 and 500 reaction kit)或者是3-4 μ g(from 10000 reaction kit)的高纯度DNA。反应得到的产物是高分子量的线性双链,是加入的扩增模板的串联重复拷贝。如果是M13克隆,扩增产物是双链,可以用正向引物或者反向引物测序。扩增的DNA可以被直接用于各型号测序仪进行测序反应而不需要任何纯化,适用于DYEnamic™ ET Terminator 和ABI PRISM™ BigDYE™。高纯度的DNA有助于读出更长的测序结果(相比传统纯化方法)。

一个384孔板克隆来源于Thermotogasubterranea (Tsu) 80%甘油储存的文库，按下列条件扩增：

- * 1μl培养物被转移到9μl TempliPhi变性缓冲液中，95°C加热3分钟以裂解细胞
- * 冷却到室温。加入10μl TempliPhi预混和物。30°C保温4小时
- * 95°C加热5分钟灭活残余酶活性。得到的模板可以直接用于测序

结论

TempliPhi DNA测序模板扩增试剂盒

- * 不需要细菌培养和DNA纯化
- * 降低实验室用品的消耗
- * 等温反应过程，不需要热循环
- * 均一性产生微克级DNA

使用illustra TempliPhi DNA Amplification 试剂盒进行DNA扩增的结果

正如本章前面所讨论的，TempliPhi扩增的DNA可以同非扩增的DNA一样用于同一个实验应用。质粒，M13和其他环状DNA通常用做模板进行测序实验。TempliPhi扩增的质粒DNA具有很高的质量且使用全自动循环测序法能得到精确的测序结果(图10)。



图10采用illustra TempliPhi 100 Amplification 试剂盒进行质粒DNA的扩增后的测序数据。扩增后的DNA随后采用DYEnamic™ET Terminator Cycle Sequencing 试剂盒进行测序并在ABI PRISM3100 Genetic Analyzer中进行分析。

采用GenomiPhi进行全基因组的扩增(WGA)

GE Healthcare公司生产的GenomiPhi™ 进行全基因组扩增方法是采用了Phi29 DNA聚合酶，一种高度持续的具有良好的链置换活性的酶，并联合随机测序六聚体引物(随机六聚体)在等温的条件下对DNA进行扩增，而无需使用热循环仪。首先，随机六聚体会结合到变性的线性DNA模板的多个位点。然后，Phi29 DNA聚合酶在这些位点同时开始复制。随着合成的进行，上游复制的DNA通过链置换会产生新的DNA单链。随后的引导过程以及DNA的链置换会产生大量长度达到几千个碱基的适合基因分析的大分子量的双链DNA(图11)。10ng的基因组DNA采用这种简单而稳定的方法可以产生微克级别数量的高分子量的DNA。这些DNA复制是相当的精确，因为Phi29 DNA聚合酶本身具有校对3' -5' 核酸外切酶的活性(10, 11)。必须指出的是，GenomiPhi方法并不能保持表观遗传的甲基化模式。

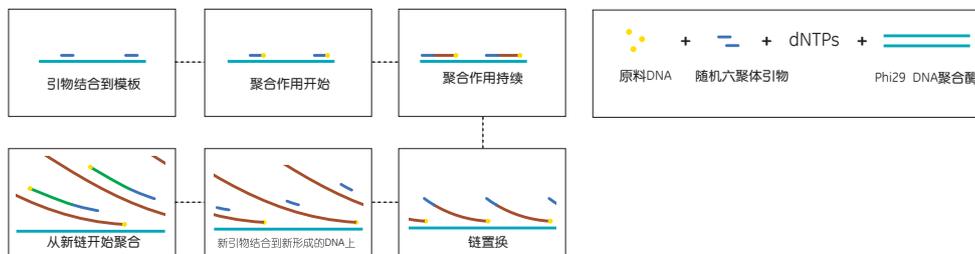


图11 图所示的是用GenomiPhi方法对全基因组DNA进行扩增。

结论

illustra GenomiPhi V2 DNA Amplification Kit

- * 快速制备少量基因组DNA: 4到7 μ g, 1.5小时即可完成
- * 无模板的阴性对照中, 无DNA扩增
- * 对于不同类型的初始样本, 均按照同一个相同的简单说明进行操作
- * 全基因组扩增
- * 可获得高质量DNA, 用于后续PCR、测序、限制性酶切、杂交和克隆、微阵列比较基因组杂交 (array CGH)、高通量基因型确定以及DNA档案建档

使用illustra GenomiPhi DNA Amplification 试剂盒进行DNA扩增的结果

正如本章之前所讨论的, 扩增的DNA可以同非扩增的DNA一样用于同一个实验应用。对于全基因组扩增, 常见的应用包括文库的构建, 司法方面的分析(如, DNA指纹), 基因型(如单核苷酸多态性分析), PCR分析, DNA克隆, 比较基因组杂交分析, 全基因组测序, HLA分型和杂合性缺失(LOH)。

图12所示的是利用GenomiPhiV2 试剂盒对少量DNA模板进行扩增达到微克级别数量的基因组DNA

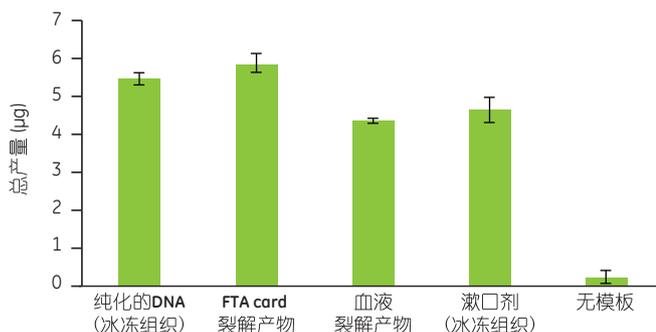


图12.采用illustraGenomiPhiV2 试剂盒对不同来源的原料进行基因组DNA的制备。

图13显示扩增的DNA与非扩增的基因组DNA在单核苷酸多态性分析中表现相似。

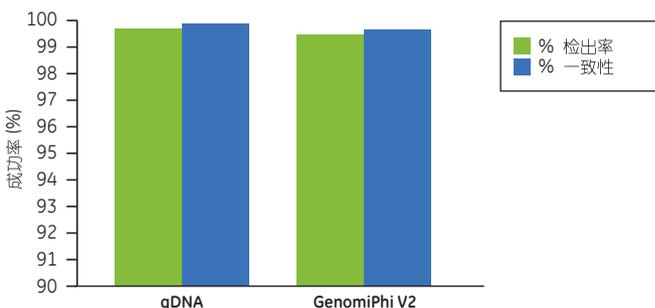


图13 采用AffymetrixGeneChip™10K人类基因组芯片对扩增产物进行单核苷酸多态性的分析。从Coriell获得的个体人类基因组DNA(gDNA)用illustraGenomiPhiV2 试剂盒进行扩增, 并在Affymetrix 10K单核苷酸多态性芯片上进行分析(绿条=% 检出率; 蓝条=%一致性)。

目前主流的single-cell单细胞分析系统已经在采用genomiPhi V2进行样本预扩增。

订购信息

产品	货号
SimpliNano超微量紫外/可见光分光光度计	29-0617-11
SimpliNano超微量紫外/可见光分光光度计(带打印机)	29-0617-12
NanoVue Plus超微量紫外/可见光分光光度计	28-9569-65
NanoVue Plus超微量紫外/可见光分光光度计(带SD卡)	28-9569-60
NanoVue Plus超微量紫外/可见光分光光度计(带蓝牙)	28-9569-67
NanoVue Plus超微量紫外/可见光分光光度计(带打印机)	28-9569-66
光径校正用标准液(15ml)	28-9244-05
热敏打印纸, 20卷/包	28-9182-26

Whole Genome Amplification

illustra GenomiPhi™ V2 DNA Amplification Kit/25	25-6600-30
illustra GenomiPhi V2 DNA Amplification Kit/100	25-6600-31
illustra GenomiPhi V2 DNA Amplification Kit/500	25-6600-32
illustra GenomiPhi HY DNA Amplification Kit/25	25-6600-22
illustra GenomiPhi HY DNA Amplification Kit/100	25-6600-20
illustra GenomiPhi HY DNA Amplification Kit/1000	25-6600-25

Rolling Circle Amplification – Template Amplification

illustra TempliPhi™ 100 DNA Amplification Kit/100	25-6400-10
illustra TempliPhi 500 DNA Amplification Kit/500	25-6400-50
illustra TempliPhi Sequence Template Preparation Kit/10000	25-6400-01
illustra TempliPhi Large Construct Kit/1000	25-6400-80
illustra TempliPhi Sequence Resolver Kit/20 rxns	28-9035-29
illustra TempliPhi Sequence Resolver Kit/50 rxns	28-9035-30
illustra TempliPhi Sequence Resolver Kit/200rxns	28-9035-31

关于GE医疗集团

GE医疗集团通过提供革新性的医疗技术和服 务，开创医疗护理的新时代。我们在医学成像、信息技术、医疗诊断、患者监护系统、药物研发、生物制药技术、卓越运营和整体运营解决方案等领域拥有广泛的专业技术，能够帮助客户以更低的成本为全世界更多的人提供更优质的服务。此外，我们还和医疗行业领袖一道，正努力通过全球政策，打造成功的、可持续的医疗体系。

我们的“健康创想”愿景普及全球。我们不断通过创新在世界范围内推动降低医疗成本、增加医疗机会、提高医疗质量。GE医疗集团总部设在英国，是通用电气公司(纽约证券交易所：GE)下属的业务集团之一。GE医疗集团的员工分布于全球100多个国家和地区，致力于为医疗专业人士和患者服务。

欲了解更多有关GE医疗集团信息，请访问公司网站 www.gelifesciences.com.cn

全国免费客服热线：800-810-9118

GE医疗中国

北京办公室

北京市经济技术开发区
永昌北路1号
邮政编码：100176
电话：010-58068888
传真：010-67872812

上海办公室

上海市张江高科技园区
华佗路1号
邮政编码：201203
电话：021-38777888
传真：021-38777451

广州办公室

广州市天河区珠江新城花城大道87号
通用电气大厦10楼
邮政编码：510623
电话：020-38157777
传真：020-38157800

成都办公室

中国成都市高新西区西芯大道3号
创智联邦3号楼
邮政编码：611731
电话：8628-62722345
传真：8628-62722466



©2014-GE公司版权所有

GE公司有权在任何时候，在不另行通知的情况下，不负有任何义务地对上述规格和性能等进行更改，并有权终止该产品的供应。详情请与您当地的GE业务代表联系。

GE, GE Monogram, healthyimagination, imagination at work, 健康创想以及GE梦想启动未来是GE公司的注册商标

MyWorkshop No:DOC1550723

本资料仅限科研或工业使用