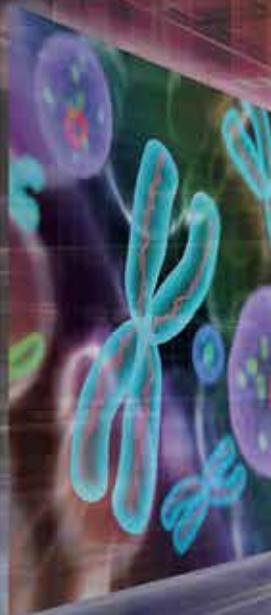


# life lab

产品、信息和科学娱乐  
第25期 | 2019年3月



追寻 CAR T 2.0 技术  
第3页

探索 3D 模型新维度  
第8页

流式创新 HIV 研究  
第24页

## 保持 好奇心

thermo  
scientific

applied  
biosystems

invitrogen

gibco

iontorrent

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

# 不断探索

## 直面科学的挑战

科学发展的历程中有突破也有失败。我们采访了一些科学伙伴，询问他们如何从挫折中学习，如何将抽象的想法与具体研究相结合，以及如何在这漫长、崇高且极具人性的旅程中艰难奋进。我们听到的回答令人惊叹。

## “科学不是冲刺，而是一场马拉松。”

“我确实每天都付出很多努力，来保证自我充实；因为如果我不这样做，我就无法在实验室里萌生创意，无法进行研究。如果你想要创新，那么你必须经历失败；你必须知道失败与成功之间的边界在哪里。如果你碰壁了，就往后退一步，散散步，呼吸些新鲜空气：这为其他事情的发生开辟了一个创造性的可能。是希望在支持我日复一日地探寻。”

— Christina Waters



## “科学的挑战之处在于，目标始终在变化。”

“一天中最糟糕的是：无论如何都行不通。一天中最美好是：终于成功了。所以，每当我碰壁时，我会先听音乐。我会面带笑容地沉睡，然后在第二天重新回到实验室，准备好迎接暴风雨，恢复精力，整装待发。也许我会找到一些超棒的治疗方法，或者也许我会将科学向前推进一小步。这正是每天驱使我起床的动力，因为我知道我参与了这场战斗。”

— Justin Slawson

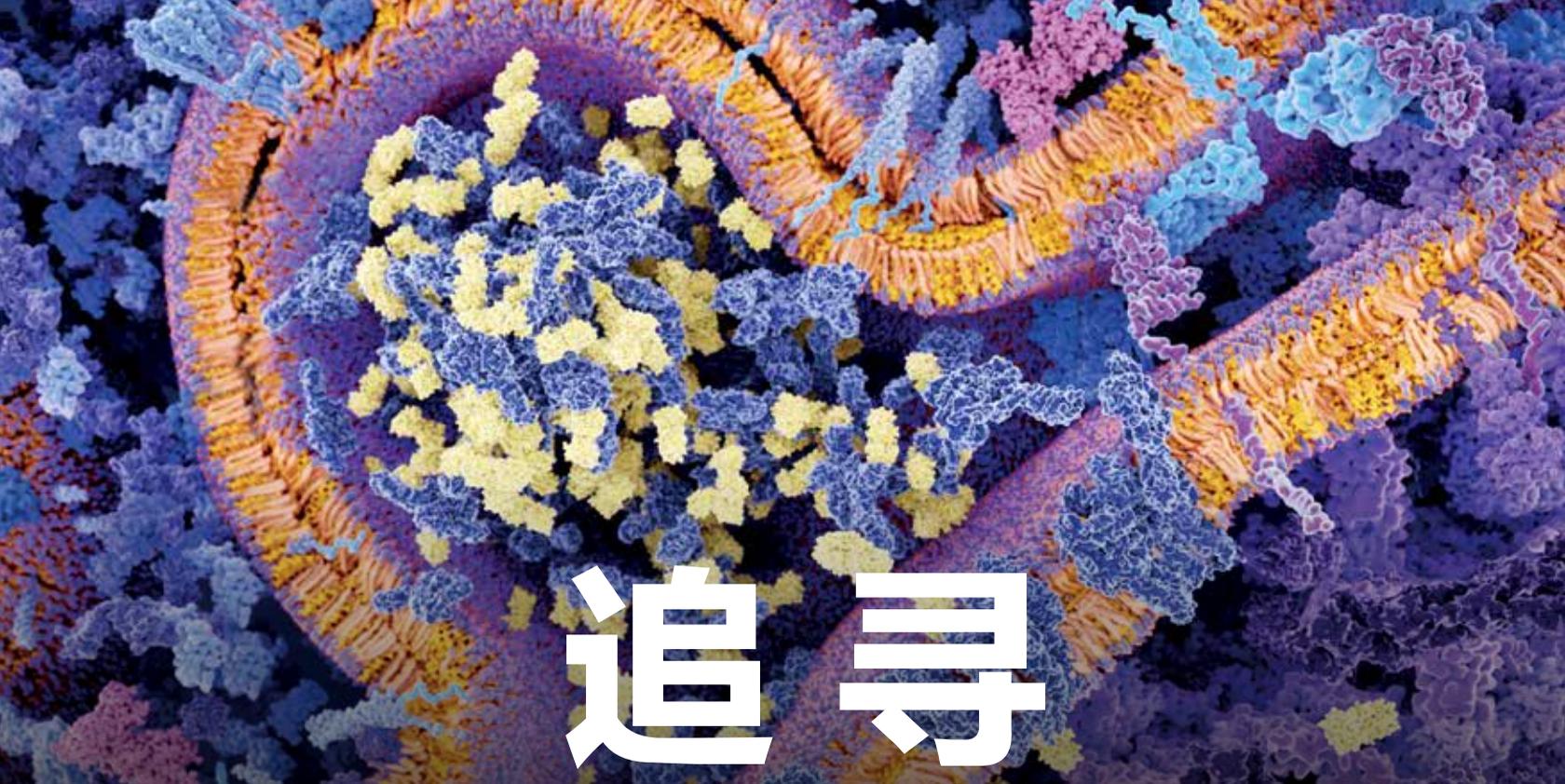


## “进步源自对失败的突破。”

“我对分析和科学非常严谨；随着研究经验的丰富，我想变得更加富有创造性。当我在实验室受阻时，我会去那些可以激发创造力的地方。进展源自对失败的突破。你需要克服对失败的恐惧，因为在学习的过程中你一定会经历失败。我所知道的最棒的科学、那些能够取得令人难以置信的突破的科学家，都非常有创造力。”

— Sarah Dykstra

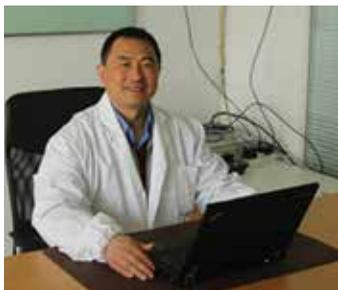




# 追寻

## CAR T 2.0技术

一个由医生转向CAR T持续创新研究者的故事



俞磊博士, 医学博士, 哲学博士  
中国华东师范大学

化学与分子工程学上海分子治疗与  
新药创制工程技术研究中心

生物医学工程与技术研究所(iBET)所长;  
上海优卡迪生物医药科技有限公司

自去年Emily Whitehead的个性化免疫疗法取得成功以来, CAR T细胞疗法开启了一个新时代。在理解嵌合抗原受体(CAR)技术及其推进治愈的潜力方面, 出现了科学研究狂潮。其中的代表就是俞博士, 他是一名受过医学培训的外科医师, 同时也是一名经验丰富的研究员。他对基于基因疗法研究的转化医学的热情, 驱使他在中国、美国和加拿大等不同国家、不同文化之间做出辛勤的努力。

在努力缩短实验室和临床应用的同时, 俞博士讨论了创新CAR T细胞疗法2.0的前景, 以及他继续追求更精准免疫疗法的推动因素。

**您的简历令人印象深刻——从临床医学开始, 然后拓展到基础研究。是什么启发激励了您?**

在为许多患者进行心脏手术后, 我注意到几乎每个患者都必须回到ICU。对于经历这类手术的患

者, 很难控制进一步感染和脓毒症。这驱使我思考: 如何能在医院控制和预防这些感染。

**您能带我们回顾一下您的科研历程吗?**

我的动机就是帮助患者, 所以我申请了阿尔伯塔大学(加拿大)的医学微生物学和免疫学博士学位。我的研究聚焦于疫苗研究。

**毕业之后, 我问自己, 下一步该做什么?**

那时候, 基因疗法很热门。我申请了加州大学圣地亚哥分校、西奥多弗里德曼的实验室。弗里德曼教授是基因治疗的先驱, 他于1972年创造了“基因疗法”一词。我们研究通过基因工程的方法来提病毒载体的安全性。之后, 我和Sam Wang Kim教授一起研究基因安全性。之后, 我和Sam Wang Kim教授一起研究基因输送。同时, 我与一家日本公司合作, 在加州欧申赛德成

立了一家公司。公司最初只有五个员工，现在已经扩张到115人了。

### 我们看到您有多个国家的工作经历。您能否分享您在中国和美国的工作，对转化研究有怎样的影响？

在中国，有很多患者，也有更快的临床试验过程；在美国，有时我们需要等待患者，这个过程可能很漫长。我回到中国，为转化医学领域的更多科学家开设培训。我设法让这些技术更快地进入临床阶段。这就是我从事基础研究和转化医学以及药物开发的原因。

### 您的方法可以通过多个角度来看待。您是如何想到的呢？

我觉得这来源于我拥有交叉学科的知识。目前，许多生命科学技术需要更丰富多样的科学知识才能完成设计，同时降低失败的风险。此外，整个行业也促使我更加系统地、像一个系统工程师似的思考。不能顾此失彼，而是需要考虑全局，只有这样才能前进。我很幸运这给了我更大的机会去成功地帮助人们。

### 迄今为止，您最骄傲的时刻是什么？

如果你在医院工作，你会看到非常悲伤的场景。这促使我研究基因疗法技术——载体部分、基因部分、遗传部分以及临床部分的基因疗法。基因疗法已问世30年，CAR T细胞疗法是其中一种形式，这正是我们最好的时机。我治疗过一位生命垂危的患者；令人欣喜的是，在输注CAR T细胞后，患者变得有精神了，甚至能够站起来了。有了点滴的激励，我能够尽心尽力、从淋巴瘤和骨髓瘤扩展到白血病和实体瘤的研究。这么多病人仍在等待，还有很多生命可以挽救。几乎87%的患者都得救了，我对自己所做的事情非常骄傲。

### 你提到了CAR T细胞疗法。CAR T 2.0是什么？

我将第一个CAR T细胞疗法作为版本1.0，因为它们通常只是修饰CAR T细胞。事实证明它是有效的，然而，虽然我们可以继续提高他们的治疗效果，但我们无法证明其安全性。该如何平衡

两者？因此，我们考虑通过提高安全性使T胞更健康、以降低风险。如果只修饰CAR T细胞，虽然降低风险的可能性，但同样也会降低疗效。对于实体瘤，它们具有不利于CAR T细胞活性的微环境。我们思考如何制造CAR T细胞，让其可以忽略肿瘤微环境(TME)中存在的抑制作用。例如，PD-1主要由T细胞表达，PD-L1主要由癌细胞和TME表达。即使在肿瘤组织中有很多PD-L1，如果我们可以减少在T细胞上表达的PD-1，那么它们可以不受抑制地进入肿瘤并发挥其功能。我们使用silencer RNA对T细胞进行基因工程改造，使其能够更好地适应位环境，这就是我们所说的CAR T 2.0。

## 你需要考虑全局才能前进。我觉得这给了我更大的机会去成功地帮助人们。

### 您在迈向CAR T 2.0时，面临的最大的挑战是什么？

我们遇到了很多问题。目前，许多生产修饰CAR T细胞的制造商仅拥有基础研究背景。对于行业来说，我认为我们更多的是需要一个一次性的方法，从而避免污染。其次，简化过程至关重要。第三，来自每个患者的细胞是不同的，因此想要设计对照组非常具有挑战性。在这种情况下，必须有一位经验丰富的科学家、观察细胞以便做出判断。或者，在此具有应用AI的前景，因为使用AI系统将消除可变性。以中医为例，一位经验丰富的老中医希望将知识传授给他的学生。但是，传授个人直觉和感觉是非常困难的。但是如果你可以通过数据的累积使机器“理解”，那便可以设计机器语言，通过现代方法使知识的传授更加容易。

### 您对CAR T的未来及其影响有何看法？

我认为安全性仍然是一个挑战：我们很难降低风险、并使CAR T治疗更良性、很难做到在不伤害患者的情况下对其进行治疗，这仍然是一个临床瓶颈或者说一个痛点。另一个挑战是找到正确的靶标，精确辨别CAR T靶向的分子非常重要。发现生物标志物具有挑战性，因为研究时你必须关注某一类癌症、众多生物标志物和TME。例如，你必须查看过度表达的基因，过度表达是说，癌细胞产生的生物标志物可以是正常细胞所产生的100倍，因为正常细胞仍然是健康的。此外，还有新抗原：这些抗原变化非常频繁。一旦你击中正确的靶标，你可能会击中相关的100个癌细胞，但另外100个癌细胞可能会发生改变，它的困难之处就在于此。我着实认为T细胞受体(TCR)疗法联合CAR T疗法在此可能会有助益。这可能是未来的发展方向。

### 在科学之外有没有什么东西真正地驱动和激励您？

我喜欢读书，游泳和散步，这也是我思考问题的时间。我读过也写过很多武侠故事，关于教导别人如何惩强扶弱。医生与科学家是相通的：目标都是治疗患者，拯救患者。这可以归结为两个目的：其一是尽力让人们长寿；其二是努力使他们的生活质量更好。换句话说，让患者更健康、更幸福。这就是为什么我要一步一个脚印，用我所学尽最大的努力实现这个目标。

[thermofisher.com/cartcelltherapy](https://thermofisher.com/cartcelltherapy)



# 合成生物学、游戏和 食品安全

## 通过非传统方法寻求答案

根据世界卫生组织(WHO)的数据,全世界每年有10分之一的人受到食源性疾病的影响。黄曲霉毒素是一种生长在谷物上的霉菌释放的有毒物质,是导致全球食源性健康危机的主要原因。有45亿人长期接触这种天然存在的有毒物质,这可能导致儿童发育迟缓(身体发育和智力发育不足)、肝癌和死亡。目前有多种管理和降解黄曲霉毒素的方法正在实施,但没有一种被广泛认为是有效

的。科学家认为可以创造一种酶来攻击和降解黄曲霉毒素,使其毒性降低多个数量级。

因此,一群不寻常的合作伙伴:玛氏公司、加州大学戴维斯分校、赛默飞尔科技公司、华盛顿大学、东北大学、非洲黄曲霉毒素防治合伙企业(PACA)以及联合国粮食及农业组织(FAO)聚集在一起,挖掘在线的游戏化蛋白质折叠的力量,希望能够加快获得解决方案的进程。

**独特解决方案:**为了解除黄曲霉毒素的危害,玛氏邀请赛默飞和加州大学戴维斯分校的科学家们,帮助开发一种消灭或减轻这种有毒物质的方法。黄曲霉毒素运动在世界粮食日(2017年10月16日)以游戏挑战马拉松的形式推出,玩家使用名为Foldit的众包计算机游戏,尝试重组可用于破坏黄曲霉毒素的蛋白酶。

在不到一年的时间里,玩家设计了超过160万种可能降解黄曲霉毒素的模型。这些玩家改变3D分子所花费的时间总共约80000小时—这相当于大约100名全职员工一年的工作时间。

## 合成生物学成为食品安全的推动力

在过去的一年里，Foldit平台发布了12轮黄曲霉毒素谜题挑战。每轮比赛结束后，得分最高的模型将被选中进入下一轮的分析步骤。加州大学戴维斯分校Siegel实验室的科学家们分析蛋白质结构的氨基酸序列，并将信息发送给赛默飞。由于合成生物学技术的进步，氨基酸信息被翻译并优化为生物学的数字代码DNA。这种DNA由赛默飞的合成生物学团队、利用其专有的寡核苷酸功能和Invitrogen™ GeneArt™基因合成工具，通过物理方式生产，以编码新设计的蛋白质。未来的DNA合成将使用微型半导体核酸合成平台。它可以同时生成35000个可单独选择的寡核苷酸，然后将它们拼接在一起构成酶的代码。合成的

## 合成生物学是实现可持续未来的关键学科。

DNA分子被立即送回Siegel实验室，以观察下游表达、折叠成蛋白质时，是否具有催化分解黄曲霉毒素的能力。

科学家对黄曲霉毒素的活性结构内酯环特别感兴趣，因为这使得在工业条件下，若合成的DNA能够表达成水解黄曲霉毒素B1内酯环结构的酶，

仅需要水即可进行所需的化学反应。通过酶水解来化学降解该内酯环，有可能使黄曲霉毒素的致突变性降低超过400倍。

“我们希望通过联合力量，和利用每个成员在的专业知识和能力，减轻发展中国家的这一严重健康问题。”赛默飞副总裁兼合成生物学总经理Helge Bastian说。“通过利用赛默飞专有的和行业领先的基因合成技术和平台，我们还希望证明合成生物学是实现未来可持续发展的关键学科。合成生物学使生命科学知识更接近消费者，并且具有缓解社会问题的潜力，让世界更健康、更清洁、更安全。”

Adapted from: Sponsor Feature in Nature 562, 7727 (18 October 2018)

## 预见未来，即时使用



使用我们的增强型寡核苷酸订购工具，全透明快速订购

根据客户的声音，我们推出了一个增强版寡核苷酸在线工订购具，可以让您了解的收到货物的清单、时间以及价格。

- 配置实时价格更新，以使您保持预算
- 产量计算器，以便您了解可收获的材料量

访问网址，体验在您意料之中的简单寡核苷酸订购  
[thermofisher.com/oligos](http://thermofisher.com/oligos)

## 我们的合成生物学为您提供：



### GeneArt基因合成

从基因合成到蛋白质生产的合作伙伴

[thermofisher.com/geneart](http://thermofisher.com/geneart)



### 基因组编辑

用于基因工程和基因组编辑的完整工具包

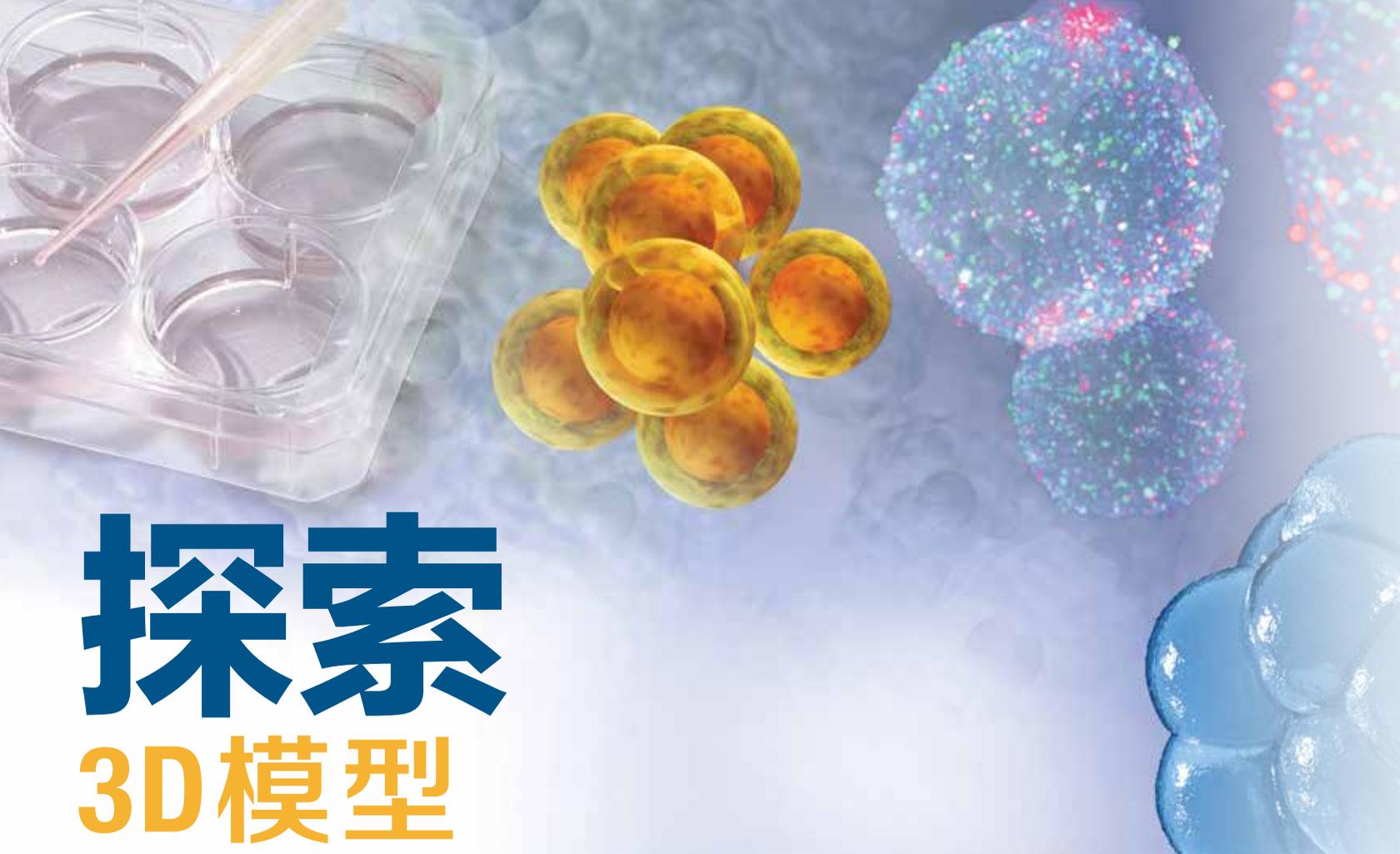
[thermofisher.com/crispr](http://thermofisher.com/crispr)



### 寡核苷酸合成

广泛的即用型或定制寡核苷酸产品组合

[thermofisher.com/oligos](http://thermofisher.com/oligos)



# 探索 3D模型 新维度

现在开始培养和分析类器官和球状体

许多研究人员表示, 在我们展望生物学和科学创新的未来时, 通过对类器官和球状体的研究创建更多生理学相关模型是一个需要更多帮助的领域。

因此, 我们编制了一系列经过测试的产品、方案以及开创性的出版物, 可以帮助您加速现实细胞模型的开发。

这些三维(3D)模型不仅模仿细胞功能, 而且能够进行更强大的化合物测试并产生更具代表性的分析。

请访问 [thermofisher.com/organoid](https://thermofisher.com/organoid), 查看应用说明、方案、出版物和我们推荐的选择指南, 并学习如何开始培养类器官和球状体。

## 3D模型研究的历史性时刻

### 1957

美国发育生物学家Aron Moscona在洛克菲勒医学研究所证明, 在一起培养的解离细胞会产生聚集体 — 3D结构。

### 1970s

加拿大西安大略大学的Robert Sutherland和他的同事们为Moscona描述的结构创造了“球状体”一词。



## 来自剑桥大学戈登研究所LAURA BROUTIER的实验室观察

“我对如何使用类器官进行肿瘤病理学建模非常感兴趣。到目前为止，我们还在使用2D细胞系和动物模型；但是现在，由于已发表的类器官技术(特别是在前列腺癌、结肠癌和胰腺癌研究领域)，我们在这一病理学方面投入更多了。现在我们可以维持细胞间和细胞与基质间的相互作用，并改进我们在药物反应方面的工作。”

访问以下网址，查看她的完整故事和其他内容。

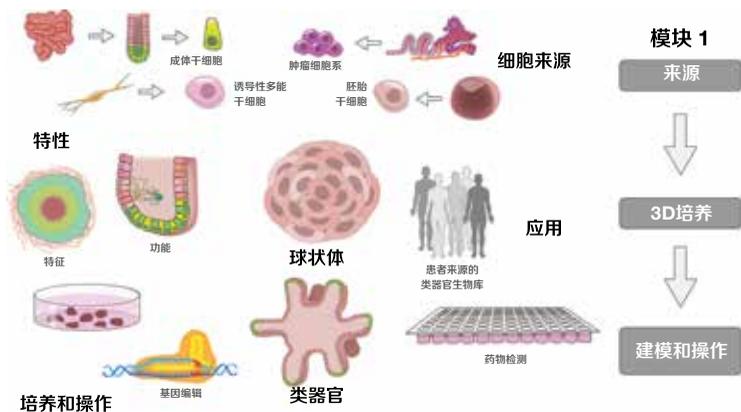
[thermofisher.com/3dstories](http://thermofisher.com/3dstories)

## 获得免费的3D教育课程

探索我们的免费电子学习模块，为您提供有关当前模拟器官生理学和疾病的3D培养模型(包括球状体和类器官)的历史概述和基本信息。

该课程将介绍3D培养模型的重要特征以及这些模型系统的现实应用和局限性。

[thermofisher.com/3dlearningcourse](http://thermofisher.com/3dlearningcourse)



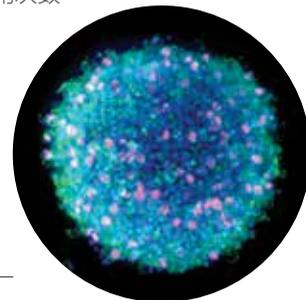
## 我应该使用什么产品来培养3D模型？

作为类器官和球状体的同行互查论文中引用次数最多的产品，

Gibco™培养基、添加剂和基质广泛用于细胞3D模型的生长、分化和成熟。可以使用这些产品制备培养系统以培养诸如干细胞或癌细胞系等特定细胞类型。

Gibco细胞培养产品与Thermo Scientific™仪器和塑料耗材以及Invitrogen™分析试剂一起使用，可帮助您立刻胸有成竹地开始培养。

[thermofisher.com/3dproducts](http://thermofisher.com/3dproducts)



### 1980

由劳伦斯伯克利国家实验室的Mina Bissell领导的一个小组发表了一篇文章，强调细胞外基质的重要性。

### 2008

RIKEN(研究所的YIKikiSasai和他的团队证明，干细胞可以被诱导成神经细胞球，这些球可以自组织成独特的层。

### 今天

Nature Methods将类器官称为“2017年年度方法”，标志着过去十年研究出版物的显著增长。

# 3D细胞模型中的 荧光检测

在生理学相关背景下研究复杂生物学的简单工具

传统的二维(2D)细胞培养模型缺乏细胞在生物体内经历的许多环境条件。它们的物理和生化环境完全不同。出于这个原因,研究人员已在转向三维(3D)生长的细胞模型。这些通常被称为类器官或球状体系统。类器官和球状体在许多应用中都显示出巨大的潜力,包括新药研发、毒理学和疾病建模。这些3D细胞模型提供了在生理学相关背景下更好地理解复杂生物学的机会。

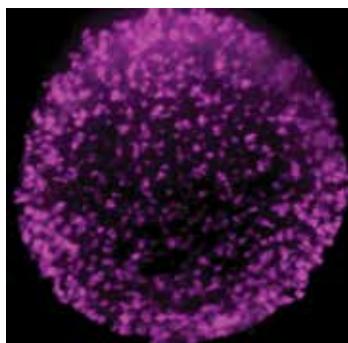
三维生长的细胞通常以更具生物化学相关性的状态存在,并且具有不同的形态和功能,但是培养它们需要大量的时间和资源投入。

我们提供已在研究人员的2D培养中建立信心的分析工具。现在,这些工具可以轻松应用于3D模型系统,从而以更快的速度推进发现。

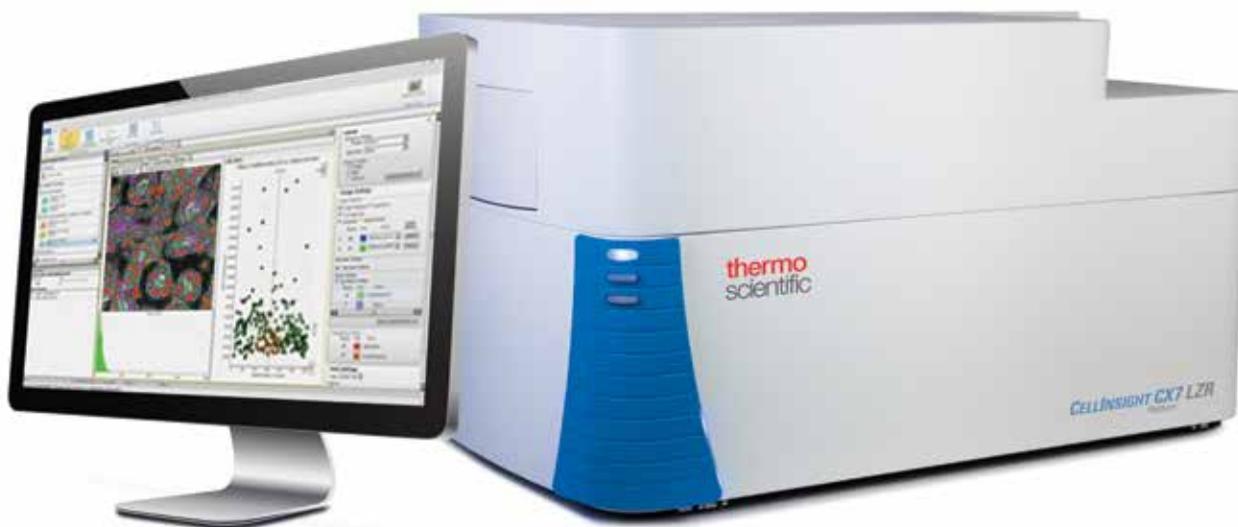
## 抗体检测

免疫荧光是研究任何疾病状态的重要技术。通常使用一抗检测细胞内所需的蛋白质和使用已标记的荧光二抗通过荧光信号提供检测。三维模型比2D模型更密集。它们给标记带来了新的挑战,可能需要仔细优化。常见的问题是背景荧光和标记不均匀性增加。这些问题的解决方案之一是直接标记一抗。直接标记降低了优化的复杂性;可以同时使用多种一抗而不产生交叉反应性问题,并且通常会减少非特异性背景问题。

可以使用Invitrogen™ Zip Alexa Fluor™抗体标记试剂盒轻松快速地标记您最喜爱的一抗标记物(图1)。

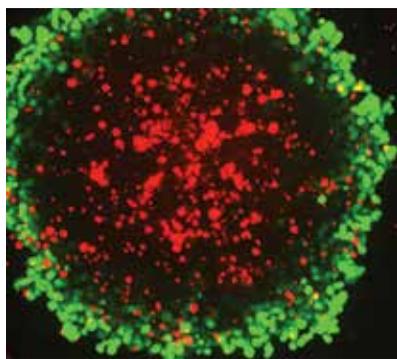


**图1. 用Alexa Fluor 647标记的Ki67抗体对HeLa球状体细胞进行染色(使用Zip Alexa Fluor 647快速标记试剂盒)。在Thermo Scientific™ CellInsight™ CX7 LZR高内涵分析(HCA)仪器上使用共聚焦模式对细胞进行成像。**



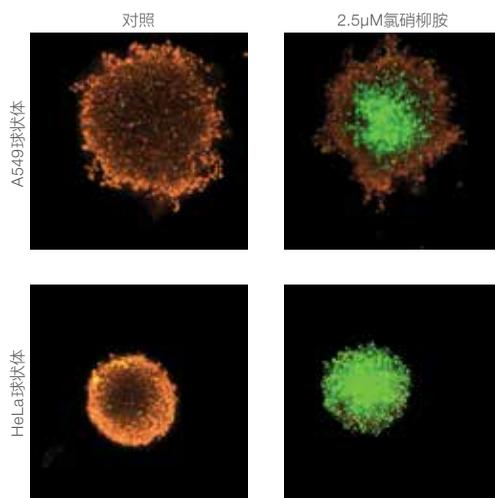
## 活性、增殖和健康

类器官和球状体在功能方面与2D模型不同，因为它们具有不同水平的氧、营养物和代谢物的区域。细胞凋亡或坏死区域通常见于核心，而增殖细胞区域通常可在外周检测到。可以进行简单的活/死检测以监控类器官和球状体的形成和健康(图2)。



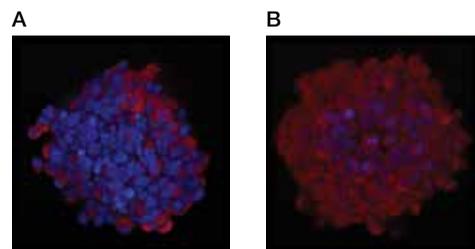
**图2. 用Invitrogen™ LIVE/DEAD™细胞成像试剂盒染色的Alexa Fluor 594细胞的活球状体的共聚焦图像。在CellInsight CX7 LZR HCA平台上拍摄。死亡细胞的区域通常见于三维培养的中心。**

线粒体在细胞生存和细胞死亡中起着决定作用。越来越多的研究将线粒体功能障碍置于疾病的核心。必须能够在模型系统中监控细胞死亡背景下的线粒体的健康(图3)。



**图3. 监控球状体中的线粒体健康和细胞凋亡。用不同剂量的氯硝柳胺处理球状体24小时，用Invitrogen™ MitoTracker™ Orange染料和Invitrogen™ CellEvent™ Caspase-3/7 Green检测试剂染色，并用CellInsight CX7 LZR HCA仪器成像。氯硝柳胺剂量增加导致线粒体去极化(橙色)和细胞凋亡增加(绿色)。**

确认3D细胞结构正维持着适当的生理形态对于取得成功的研究成果至关重要。我们强大的成像和高内涵分析平台与我们的试剂相结合，是分析类器官和球状体培养的理想选择(图4)。



**图4. 使用Invitrogen™ CellROX™ Deep Red试剂对球状体进行染色。(A)未处理的HeLa球状体或(B)用10μM甲萘醌预处理的HeLa球状体。红色为表现出氧化应激的细胞，蓝色为活细胞核。**



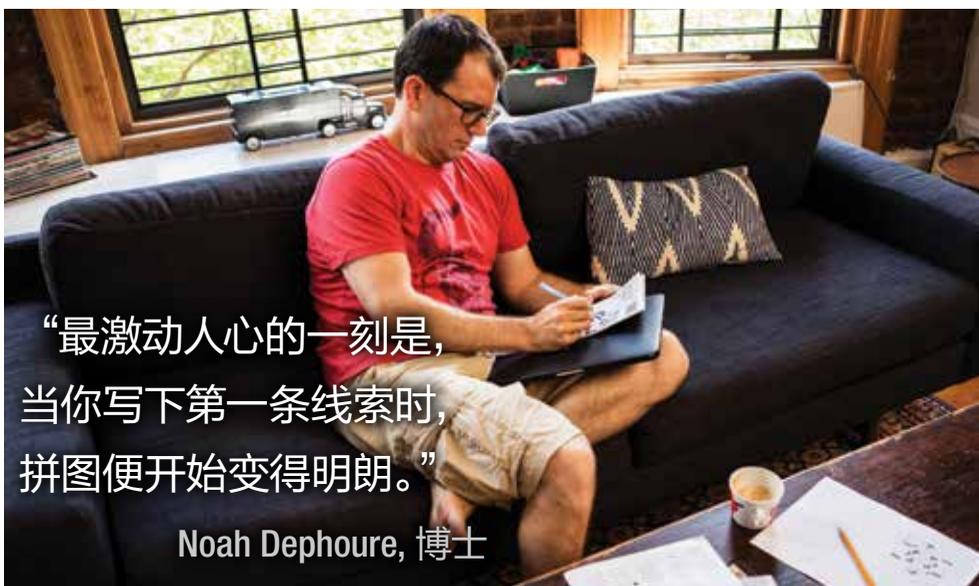
# 10条 终极经验

## 来自 实验室经理

实验室经理  
分享他们的智慧：  
如何在实验室中  
提高生产效率，  
同时最大限度地  
利用实验室环境

1. 保证安全 — 对实验室的健康和安全保持敬畏之心
2. 了解实验室里的每个人都在做些什么 — 哪怕只是一点点
3. 当实验室的财务状况良好时，囤一些不易坏的物品
4. 与当地销售代表交朋友，获取最新优惠、产品样品等
5. 与实验室研究人员和睦相处并互相尊重 — 会有超棒的实验室伙伴让你在深夜开怀大笑，并成为你的铁哥们
6. 让在实验室工作的所有人轮流值班 — 从本科生到高级博士后
7. 友善对待现场建造和供应中心的工作人员
8. 培养与邻近实验室的关系 — 你永远不知道何时需要帮助
9. 了解你的PI并帮助他们完成经费申请
10. 乐在其中 — 这是一段旅程

# 解决 蛋白质谜题



“最激动人心的一刻是，  
当你写下第一条线索时，  
拼图便开始变得明朗。”

Noah Dephoure, 博士

人体细胞非常健谈。大多数时候这是一件好事，因为信息可以被传递，例如，以便开始对不受欢迎细菌的免疫应答。然而，在其他时候，细胞间通信会生成错误信息，产生可导致癌症和其他疾病的病理变化。研究人员了解这种通信过程的许多方面，但完全掌握这种信号传递仍然是一个未决的难题。

幸运的是，Noah Elias Dephoure，一位在实验室和空闲时间都致力于解决谜题的生物化学家，志在揭开如何利用细胞信号来对抗癌症的神秘面纱。在他位于纽约市威尔康奈尔医学院的实验

室，他专注于研究蛋白激酶 — 修饰蛋白质以改变其功能或位置的酶。

深入研究蛋白激酶的可能性和完成纽约时报填字游戏是持续推动Dephoure的关键因素。幸运的是，多年来他在实验室中使用的工具使得这项研究变得不那么复杂了。

“在过去，如果你想弄清楚你的样品中含有哪些蛋白质，你必须非常辛苦地制作特异性工具来识别其中一种。” Dephoure说。“现在，你可以将它们全部打破，将它们扔进质谱仪，一次识别和量化数千种蛋白质。”

Dephoure使用Thermo Scientific™ Tandem Mass Tag (TMT™)试剂通过质谱法识别和定量蛋白质。

“Thermo Fisher Scientific的工具在不断改进，对我们所需数据的质量和精确度产生重大的影响。以前我们一次只能检查500个多肽，现在我们可以研究成千上万个。”他说。

他的终极目标是了解基础细胞生物学和人类疾病研究背后的信号事件。“我们仍然只是理解了生物学的冰山一角。人类基因组中编码的蛋白激酶超过500种，我们可能只了解它们中的100种是做什么的。”生物化学家沉思道，“解决这个难题可能会迎来癌症疗法的突破，即通过刺激免疫系统来攻击疾病。”

## 更多同行灵感



认识流式细胞术达人  
Steve McClellan



通过个性化泰迪熊聚集罕见病儿童  
Christina Waters

访问 [thermofisher.com/keepseeking](https://thermofisher.com/keepseeking) 阅读Noah的完整故事并查看更多同行灵感

# 蛋白质免疫印迹

## 双绝杀

您的蛋白质免疫流程是否需要一个英雄？招募这些双绝杀搭配来拯救你的研究吧！



### INVITROGEN™ BOLT™ BIS-TRIS PLUS预制胶和INVITROGEN™ IBLOT™ 2干式转印系统

需要速度？ Bolt Bis-Tris Plus预制胶采用Bis-Tris中性pH体系，上样量高达60 $\mu$ L，仅需20分钟即可完成电泳。与iBlot 2干式转印系统结合使用，可利用独特的即用型干式转印堆积层，转印时间仅需7分钟。转瞬之间即可分离和转移您的蛋白质！

[thermofisher.com/bolt](http://thermofisher.com/bolt)

[thermofisher.com/iblot2](http://thermofisher.com/iblot2)

## THERMO SCIENTIFIC™ SUPERSIGNAL™ WEST PICO PLUS底物和INVITROGEN™ IBIND™蛋白质免疫印迹处理系统

使用我们创新的自动蛋白质印迹处理系统 — iBind蛋白质免疫印迹处理系统 — 在上样一抗、二抗和洗涤液后即可离开。在不到3小时的时间内, 您的印迹膜即可用于最终检测。溶液通过顺序测流技术处理, 无需电池、摇床、托盘或定时器。

与我们功能强劲的化学发光HRP底物配合使用, 灵敏度、信号持续时间和信号强度高度均衡, 可用于流畅高效的免疫检测工作流程。

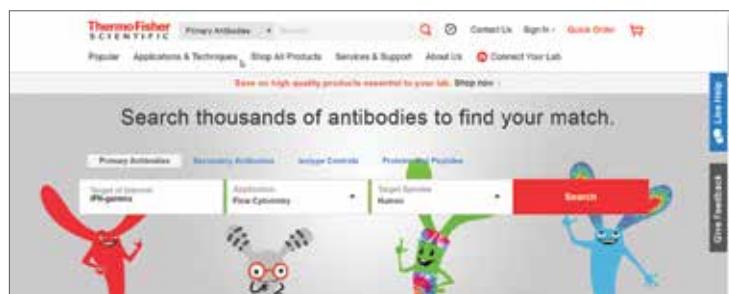
[thermofisher.com/chemisubstrates](http://thermofisher.com/chemisubstrates)  
[thermofisher.com/ibind](http://thermofisher.com/ibind)



### 一抗和二抗

找到适合您蛋白质免疫印迹检测的一抗和二抗的完美配对。我们在50多个研究领域提供数千种选择, 如癌症、表观遗传学、免疫学和神经科学。马上查找您的匹配抗体。

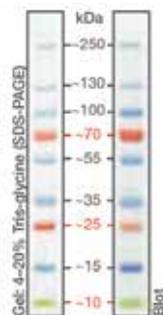
[thermofisher.com/antibodies](http://thermofisher.com/antibodies)



## THERMO SCIENTIFIC™ PAGERULER™ PLUS 预染蛋白质分子量标准品和 INVITROGEN™ NUPAGE™ BIS-TRIS凝胶

您可以信赖NuPAGE Bis-Tris预制胶的中性pH体系, 帮助在电泳分离过程中保持蛋白样本完整性, 获取笔直的泳道和文献级的数据结果。将其与畅销的PageRuler Plus 预染蛋白质分子量标准品(分子量范围10-260 kDa)结合使用, 以监控凝胶的走行和转印。

[thermofisher.com/nupage](http://thermofisher.com/nupage)  
[thermofisher.com/proteinladders](http://thermofisher.com/proteinladders)



## INVITROGEN™ IBRIGHT™ FL1000成像系统 和INVITROGEN™ ALEXA FLUOR™ PLUS 二抗

我们把最好的留在最后……准备好使用荧光多重检测将您的蛋白质免疫印迹提升到更高的水平了吗? 我们推出易于使用的iBright FL1000成像系统 — 旨在捕获高分辨率、高灵敏度的荧光蛋白质印迹 — 以及我们的Alexa Fluor Plus偶联二抗, 具有增强的灵敏度和较低的背景。使用此功能组合, 您可以在同一印迹中检测多种蛋白质。

[thermofisher.com/chemisubstrates](http://thermofisher.com/chemisubstrates)  
[thermofisher.com/ibright](http://thermofisher.com/ibright)



Alexa Fluor二抗



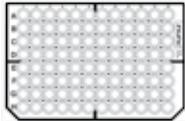
# 五个提示

## 优化UV-VIS DNA/ RNA定量的

### 使用这些基于微孔板的方法加速基因组工作流程， 以定量核酸

众所周知，在260nm处直接光度定量核酸的方法广受欢迎，这种方法无需任何试剂、无需孵育步骤或标准品。如果有需要，检测后样本都可以被回收。但是光度定量核酸的方法也有它的局限性，它的检测下限无法和荧光法媲美，所以在一些应用中无法达到需要的灵敏度。

下面介绍一些光度法定量核酸的优化技巧。

形式比较			
样品形式 (测量设备)	比色杯 	Microplates 	μDrop Plate 
检测容量	50 μL到1-2 mL	15-100 μL (384孔板) 30-150 μL (96孔板)*	2-10 μL
dsDNA的理论LOD (使用Multiskan Sky仪器)	0.45 μg/mL (1.0 cm路径)	0.9 μg/mL (0.5 cm路径)**	9 μg/mL (0.05 cm路径)
dsDNA的理论最大可测量浓度 (使用Multiskan Sky仪器)	125 μg/mL (1 cm路径)	250 μg/mL (0.5 cm路径)**	2500 μg/mL (0.05 cm路径)
通量	+	+++	++

\* 适用于小面积UV微孔板。

\*\* 在384孔UV板中吸移50μL样品时的路径长度。

## 1 检测形式可以提高检测灵敏度

检测限(LOD)是可以同背景本底区分开的检测最低量, 即最低检测下限。LOD取决于检测时不同的检测形式, 例如微孔板、比色杯或Thermo Scientific™ μDrop™ 微量检测板。比色杯的检测灵敏度最佳(LOD值最低), 但是需要的样本体积最大且检测通量最低。在高通量检测实验中, 微孔板检测是最佳的选择(见上表)。

## 2 空白样本必不可少

光度检测仪器有背景光的影响, 所以在光度测量中需要进行空白扣除。例如, 使用微量检测板时, 在样本检测时需要同时检测空白样本, 或者在样品检测前需要在相同的样品位置进行空白测量。Thermo Scientific™ 微孔板读板仪的软件 Thermo Scientific™ SkanIt™ 软件可以自动扣除空白。

## 3 波长“空白”也很重要

波长空白实际上是背景校正, 而不是空白(虽然它通常被称为“空白”), 但其非常重要。建议在 320 nm 处进行波长空白操作。此波长下, 核酸吸光度最小, 因此 320 nm 的吸收值常用于指示测量样品中是否存在不良污染。

## 4 最大限度地减少蒸发的影响

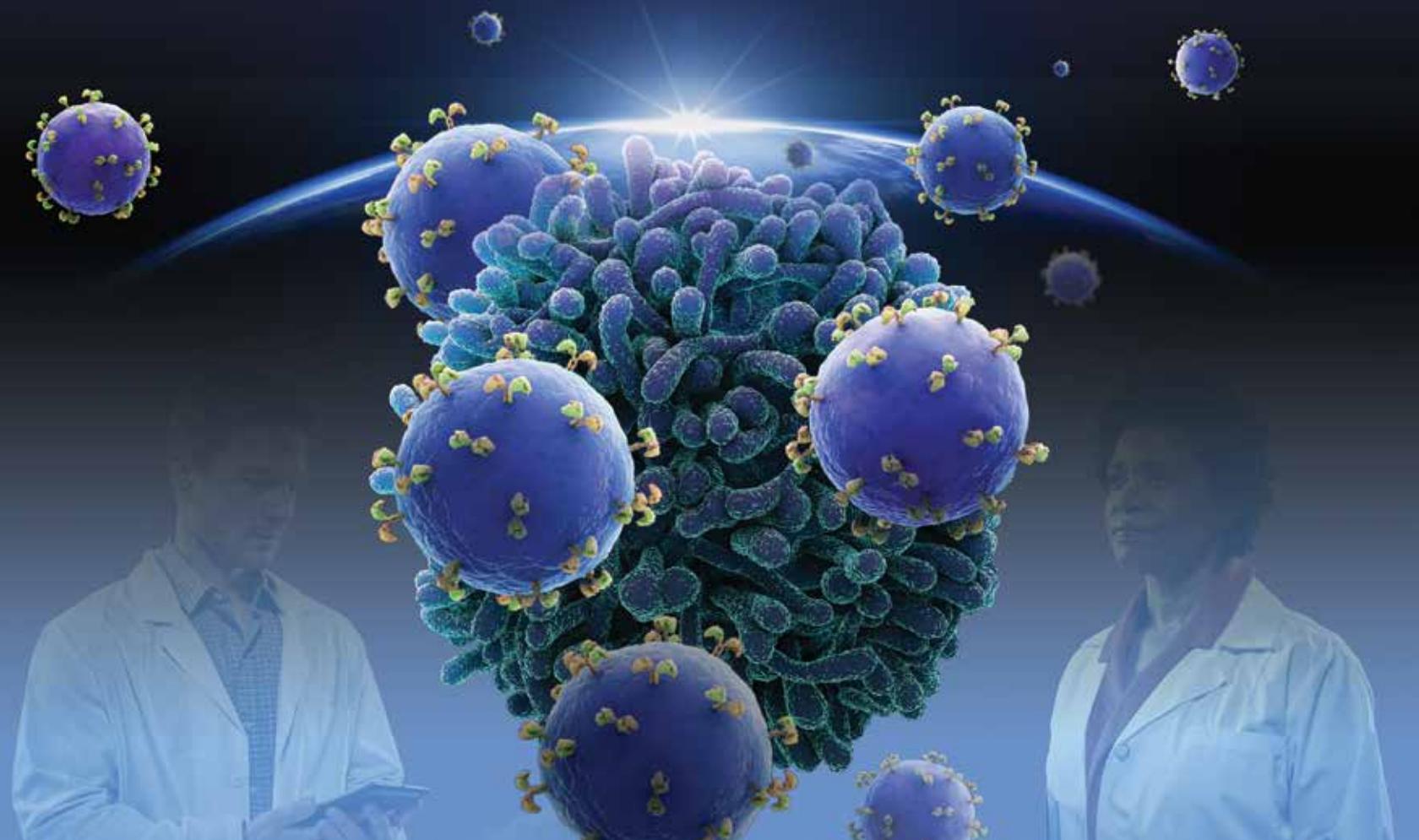
积高的小浓度样本容易蒸发, 引起核酸检测误差, 尤其是超微量检测板或Thermo Scientific™ NanoDrop™ 分光光度计中进行小体积测量。分液后需立即检测, 尽量降低蒸发的影响。

## 5 通过稀释样品免去额外的工作

了解您的检测范围 — 未稀释的样品只能在规定的检测范围内进行定量。检测下限由LOD决定(在提示1中讨论), 而上限由所用仪器的线性范围决定, 该值还取决于检测形式。因此可以通过改变检测形式来增加检测上限(见上表)。

注释: 超微量检测板同时可用于比色杯和微量样品检测, 超微量检测板兼容 Thermo Scientific™ Varioskan™ LUX和Multiskan™ Sky微孔板读板仪上的读取。

详情请访问 [thermofisher.com/platereaders](http://thermofisher.com/platereaders)



# 超越极限

在免疫肿瘤学方面取得重大进展, 你比你想象的更接近

免疫肿瘤学可能会显著改变我们看待和治疗癌症的方式。我们拥有创新的技术、教育工具和专业知识, 从发现到验证癌症免疫疗法的过程中, 我们都能够助您一臂之力。

详情请访问 [thermofisher.com/immunooncology](http://thermofisher.com/immunooncology)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

# 使命 (几乎) 完成

## 免疫学研究人员面临新旧挑战

对疾病状态的调查使研究人员踏上了一段复杂的旅程，在这段旅程中，他们不断揭示免疫系统的内部运作，及其对病原体的反应。在本期中，我们将探索免疫学以及各种疾病，着重关注持续创新是如何改善治疗的。

但是你可能有所不知，尽管一些致命的疾病被认为已完全根除，但其实它们仍潜伏在我们周围。

最近的例子有：

- 黑死病 — 2017年致使马达加斯加200多人死亡
- 猩红热 — 在英格兰和东亚神秘重现
- 梅毒 — 90年代的感染率为近40年中最高
- 脊髓灰质炎 — 虽然99%被根除，但仍存在于阿富汗、尼日利亚和巴基斯坦

- 麻风病 — 可治疗，但潜伏期长达三到五年，使根除变得困难
- 霍乱 — 2017年，也门有100万例，是近代史上爆发的最大病例

这些发人深省的统计数据表明，我们需要在疾病和免疫系统方面进行持续研究，并保持警惕。

# 细胞免疫学



**Payal Damani-Yokota, 博士**  
马萨诸塞大学阿默斯特分校  
细胞和分子免疫学  
t @PayalYokota

## 她的研究领域和提出的问题:

在过去的6年里,我一直在马萨诸塞大学阿默斯特分校攻读博士学位,导师是Cynthia L. Baldwin博士。我们研究的首要目标是揭示驱动 $\gamma\delta$ T细胞发育和发挥作用的信号。这些细胞格外有趣的地方在于,它们表达被称为Workshop Cluster 1(或WC1)的清道夫受体富含半胱氨酸(SRCR)糖蛋白家族,WC1作为杂交模式识别受体/共受体,特异性与 $\gamma\delta$ TCR结合。我们之前的研究表明,表达WC1的 $\gamma\delta$ T细胞对应答诸如钩端螺旋体(简称钩体)的细菌抗原是必不可少的。在与配体结合后,胞内域可通过对保守的丝氨酸和酪氨酸的

磷酸化,发出信号。我们还发现,在应答钩体时,WC1+细胞的一个亚群产生 $IFN\gamma$ ,而另一个未产生 $IFN\gamma$ 。虽然我们了解很多关于WC1的功能及其在回忆应答中的重要性,但我们不知道单个 $\gamma\delta$ TCR+细胞可以表达多少倍的WC1分子,或者需要多少这些分子来引导 $\gamma\delta$ T细胞的免疫应答。而且我们也不知道在T细胞发育期间首次检测到这些分子的时间和地点,或 $\gamma\delta$ T细胞的这些功能亚群是如何被转录编程的。

## 一些研究进展:

为了回答这些问题,我对WC1+  $\gamma\delta$ T细胞亚群的纯化群体进行了流式分选,并设计了一个培养系统,这样我就可以扩增来自单个细胞来源的78个不同的WC1+  $\gamma\delta$ T细胞克隆,原代 $\gamma\delta$ T细胞可以在其中体外增殖长达10周。我使用Applied Biosystems™ TaqMan®分析评价了每个克隆上的WC1基因转录,从而评价WC1基因表达。WC1基因的共转录显示WC1可由其自身表达,或通过两个亚群之间的某些重叠组合来表达。尽管存在这种重叠,但钩体响应性WC1+记忆 $\gamma\delta$ T细胞克隆显示出了更高的表达WC1分子的倾向,WC1分子能够与病原体结合。我还发现

WC1分子仅在胸腺 $\gamma\delta$ T细胞上表达,并在发育早期分型为大多不重叠的亚群。这一点尤其重要,因为与传统 $\gamma\delta$ T细胞不同, $\gamma\delta$ T细胞在由不同转录编程引导的胸腺发育过程中分型为功能亚群。

## 下一步行动:

$\gamma\delta$ T细胞在何处以及如何产生、以及它们为何以及如何发挥作用?固有淋巴细胞的美妙之处在于,它们具有克隆型TCR以及辅助受体,这些受体可以帮助它们早期快速应答。尽管 $\gamma\delta$ T细胞是血液中微小的群体,它们仍然可以扩增。它们充当先天免疫和适应性免疫之间的桥梁,从而形成精妙、同步、对抗病原体的免疫系统。整体而言,我的研究让我想知道人类和小鼠中是否存在这种连接系统,如果存在,它的位置在哪里。(在这种连接系统中,PRR/共同受体分子参与识别复杂的抗原并且有助于产生功能性应答以防止“细胞受损/受压”以及“外来细胞”。)因此,我通过整理从博士学位中学到的经验教训,并把它们带到博士后的下一段旅程中,我将开始癌症免疫学的冒险。



## 在免疫细胞中实现超过90%的转染和编辑效率

将分子输送到血细胞中具有挑战性。同时，血细胞的基因操作对于开发诸如白血病、实体瘤癌症和HIV感染等各种疾病的治疗是必要的。通过我们新的应用指南和分步方案，您可以在免疫细胞中实现超过90%的转染效率，在原代T细胞中实现超过90%的编辑效率。

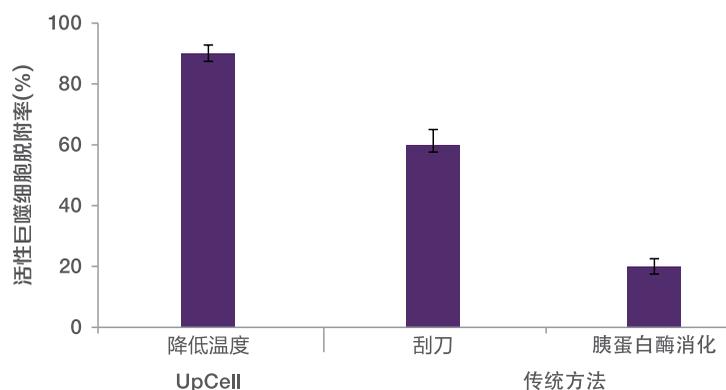
应用指南和更多信息请访问 [thermofisher.com/neon](http://thermofisher.com/neon)

## 通过降低温度促使细胞脱附的培养表面

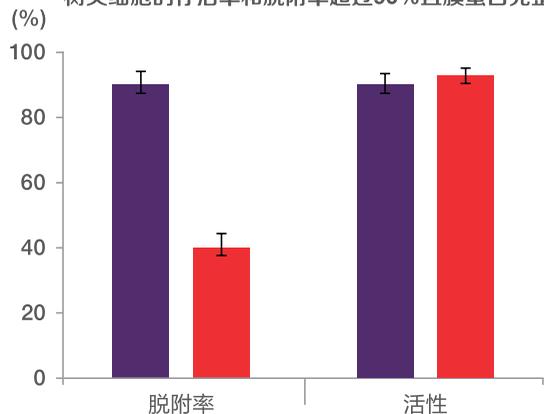
能够非酶促收获贴壁细胞，以保持细胞活性和表面蛋白质。Thermo Scientific™ Nunc™ UpCell™培养皿的温度感应表面彻底变革了用于细胞分析和功能分析的细胞的制备方式。

[thermofisher.com/upcell](http://thermofisher.com/upcell)

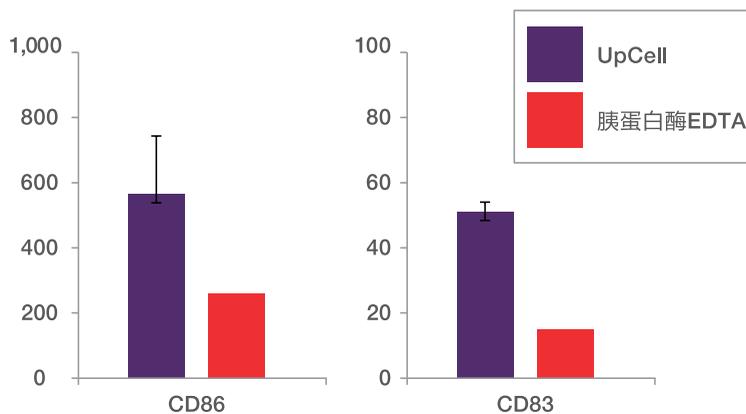
UpCell培养皿中超过90%的活性巨噬细胞脱附



树突细胞的存活率和脱附率超过90%且膜蛋白完整



平均荧光强度





# 各就各位， 预备， 自动化！

## 使用高通量和自动化解决方案 推动您的研究

免疫学和疾病研究的共同挑战是免疫原、抗体和其他相关免疫应答分子中发现的极大的多样性。您需要依靠可处理大量样品和多重分析物的技术和产品。当与要处理的临床研究样品的数量相结合时，高通量设置变得更加关键。我们用于分子生物学的自动化平台、仪器和试剂使您能够检查比以往更多的数据，从而为您提供更快地找到治疗解决方案所需的速度和信心。

从核酸分离系统到孵育箱和板移动器，Thermo Fisher Scientific为您提供自动化工作流程所需的一切。

[thermofisher.com/labautomation](https://thermofisher.com/labautomation)



## 易于进行自动化整合的设计

Applied Biosystems™ 自动化热循环仪可在自动平台上或不在自动平台上运行。使用我们的直观软件验证您的分析，然后在准备就绪时集成自动化热循环仪。

自动化热循环仪的灵活服务计划有助于最大限度地减少停机时间并降低维修成本。

[thermofisher.com/atc](http://thermofisher.com/atc)

## 灵活的细胞转化可供选择， 以满足您的自动化通量需求

不管是人工还是使用自动化液体工作站，进行细胞转化的能力对于提高通量至关重要。使用Invitrogen™ MultiShot™ 感受态细胞，您可以根据具体应用，选择同时进行1-96次细胞转化。

[thermofisher.com/multishot](http://thermofisher.com/multishot)



## PCR酶的卓越稳定性

PCR酶稳定性是成功实现自动化工作流程设置的关键。使用Platinum™ 热启动技术的Invitrogen™ DNA聚合酶可在室温下保持稳定至少24小时。

- Platinum™ II Taq热启动DNA聚合酶可使用60°C通用退火温度，扩增循环时间缩短4倍
- Platinum™ SuperFi™ DNA聚合酶有助于确保序列精确度，并具有超过100倍的Taq保真度

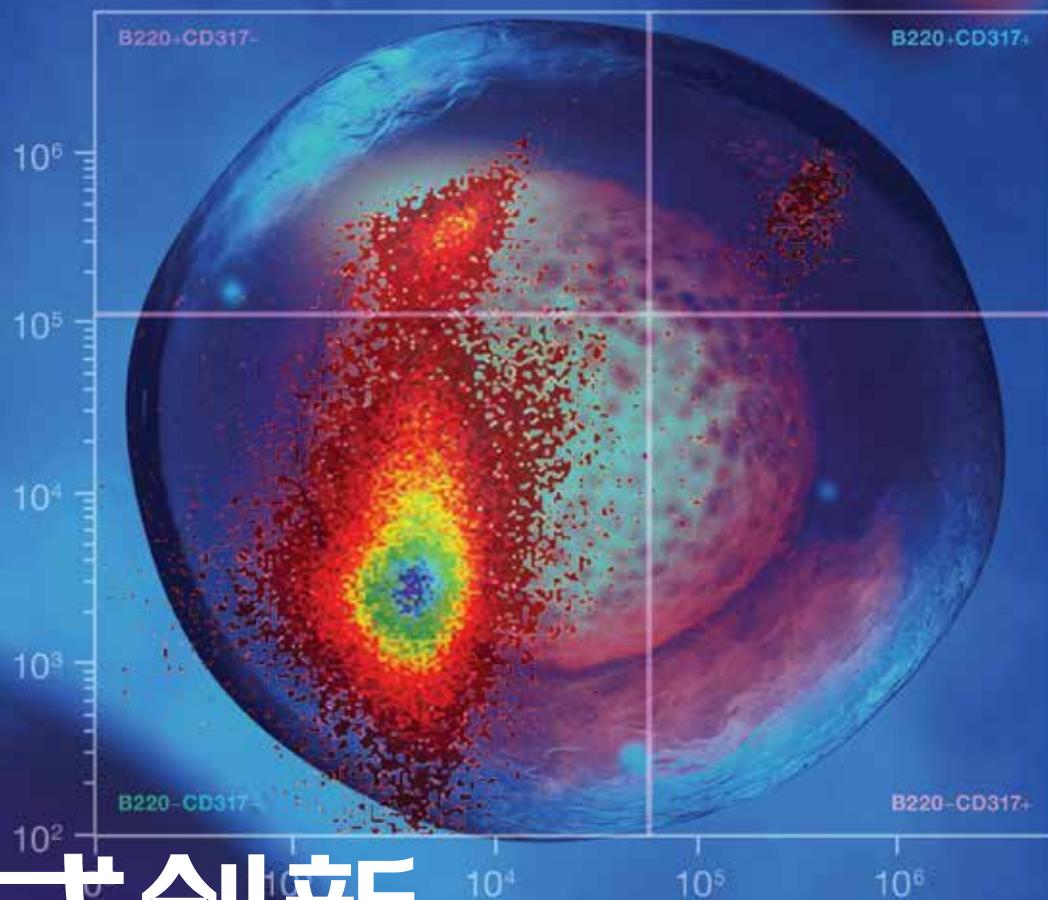
[thermofisher.com/platinumiiatq](http://thermofisher.com/platinumiiatq)

[thermofisher.com/platinumsuperfi](http://thermofisher.com/platinumsuperfi)



想要熟悉诸如DNA纯化和PCR扩增之类的基础分子生物学技术？

访问[thermofisher.com/mb101](http://thermofisher.com/mb101)，参加培训中心的课程 [thermofisher.com/mb101](http://thermofisher.com/mb101)



# 流式创新

## HIV研究进展RESEARCH

一位研究人员使用流式细胞仪对稀有T细胞分析的追求



**Sara De Biasi, 博士**  
 摩德纳雷焦艾米利亚大学  
 (UNIMORE) 生命科学系  
 意大利摩德纳

免疫疗法改变人体固有的免疫系统，提高其抗癌能力。T细胞及其介导的免疫应答是这一改变的核心。在诸如HIV的获得性免疫缺陷疾病中，HIV病毒把T细胞作为主要攻击目标，大量破坏该细胞，使人体丧失免疫功能。像Sara De Biasi这样的科学家正在对T细胞的活动和特征进行深入研究，尤其是对HIV阳性受试者体内半恒定自然杀伤T细胞(iNKT)的研究。Sara使用流式细胞术探索革命性的免疫疗法，她分享

了她的研究历程——由好奇心和早期接触触发了她对HIV与免疫系统间相互作用的研究兴趣。

### 为什么您对科学研究充满热情？

我是一个充满好奇心的人。在每一个领域，我都渴望知道事情是如何以及为什么发生的一原因是什么，结果是什么。事情越复杂，我就越热情。

## 为什么选择现在这个研究领域？

我小时候的梦想是成为一名能够做手术的医生。但是，我决定通过先获得扎实的生物学背景开始我的学习。因此，我攻读了生物技术学位。我对引起免疫系统紊乱的分子和细胞机制很感兴趣，以至于我意识到我找到了自己的方向——直到今天，这仍然是我兴趣所在。

## 最初您是如何开始接触HIV等获得性免疫缺陷疾病研究的？

Andrea Cossarizza教授是我的免疫学教授。他的热情很有感染力，我也非常想了解HIV感染过程中免疫系统的作用以及HIV是如何杀死CD4+ T细胞的。他正在寻找学生参与HIV研究；特别是研究逆转录病毒疗法的效果和副作用。我提交了申请之后就开始了研究。

## 您对稀有T亚细胞群及其在自身免疫性疾病中的作用很感兴趣。您可以分享更多信息吗？

我在免疫学方面的培训和经验都非常丰富，特别是在开发和使用新的流式细胞术方法方面。一直以来，我的研究方向是HIV/AIDS和肝炎等感染性疾病发生发展的分子和细胞机制、免疫系统的功能以及疾病的生理病理改变。我已经建立了一套专业的用于鉴定HIV感染、肝移植和多发性硬化症患者体内稀有细胞亚群的临床检测新方法，用于监测这些稀有细胞亚群的免疫功能。

## 您在研究中遇到哪些挑战？

每当我在开展一个新项目时，至少需要考虑两件大事：如何选择正确的方法以及如何处理大量的实验数据。沟通对获取新知识和得到结果至关重要，因此，不要顾忌于向同事寻求帮助。而且，我在大学工作，我的任务之一就是教学。我会说明在实验室如何工作，并强调效率是研究人员应具备的最有价值的品质。

## 凭借多参数功能和极高的分析速度，流式细胞术是目前进行稀有细胞分析的最有效技术。

教学是一项极具挑战性的工作；但后来我发现，我培养了潜在的新研究人员，我为此感到自豪。

## 在您的研究历程中，流式细胞术作为一种重要的研究工具。您可以分享更多信息吗？

流式细胞术快速而精确，可以研究在单个细胞水平表达的几十种蛋白质。稀有细胞研究已越来越重要。它不仅有助于了解疾病的发生机制，还有助于找到新的治疗靶点。凭借多参数功能和极高的分析速度，流式细胞术是目前进行解决稀有细胞分析的最有效技术。当我第一次研究HIV阳性患者的iNKT亚细胞群时，我不得不处理含量极低的目的细胞群(iNKT细胞在HIV中阳性率更低，因为HIV阳性的人免疫功能低下)。我们需要对2000万个染色的PBMC中找到这些稀有细胞亚群。以便在PBMC中找到这些稀有细胞群。直到最近，也没有一款仪器能够一次处理2000万个细胞。后来，Invitrogen™ Attune™流式细胞仪使我的研究变得可行。能够处理2000万个细胞的后果是考虑如何分析这些实验数据，但是Attune配套的功能强大的计算机解决了这个问题。

## ISAC是什么？作为其会员的感受是什么？

国际流式细胞学会(ISAC)旨在推动流式细胞术在科学研究中的影响力。ISAC的全球会员超过1850名科学家。我在2016年成为会员，我可以与顶级专家建立联系，加强在科研领域的逻辑思维

和科学方法的交流和沟通，并为我的职业生涯奠定坚实的基础。因为ISAC会员身份，我获得了意大利国家科学任教资格，成为了副教授。

## 您所做的工作将如何影响整个生命科学科研领域？将流式细胞术技术应用于其他研究领域的潜力何在？

最新的免疫疗法使用一种重塑自身的免疫系统的方法，以对抗可能伪装自己或抑制免疫系统的恶性肿瘤细胞。在黑色素瘤等某些恶性肿瘤中的疗效非常显著，但不幸的是，仍有很多患者对此疗法无效，并最终发展到癌症晚期。因此，了解免疫检查点抑制剂和分子机制至关重要，这些机制将导致发现可能帮助找到个体对疗法反应的生物标志物。

## 最后一个希望得到您看法的问题——从长远来看，您的研究发现对那些感染HIV的患者意味着什么？

年龄较大的艾滋病毒患者，如50岁以上的患者，可能会出现影响年龄更大的非艾滋病毒公民的疾病。慢性炎症和免疫激活，通常在老年人中出现并被定义为“炎性衰老”，可能存在于经历过类似早衰的HIV患者中。这种这种新发现的情况非常复杂。了解炎症和免疫激活在HIV患者中的作用非常重要，以便设计出能够支持最有效的治疗方法。

# 调查 炎症

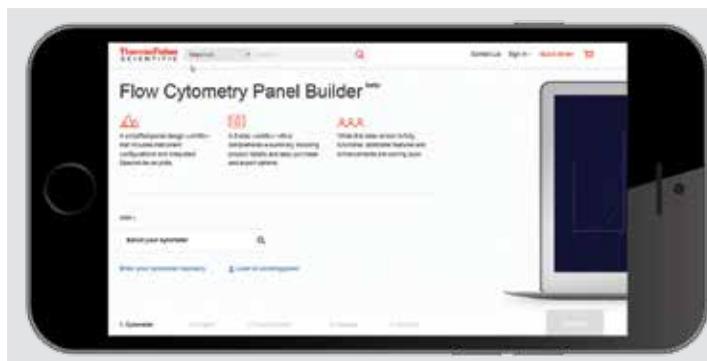
## 选择合适的抗体来探索炎症的复杂过程

炎症是身体对组织损伤的反应。

伴随的疼痛、发热和肿胀都是清除体内病原体的正常生理过程的标志。免疫细胞聚集到受影响的区域，并释放细胞因子和其他因子，以清除受损组织并开始治疗。即便是诸如触碰到发烫的炉子等非病原条件，也可能引发炎症级联反应。有限的炎症对保持身体有效运行是有保护性且必要的。

但是，如果炎症得不到很好的调节，会发生什么？

这种类型的炎症存在于慢性病中。诸如动脉粥样硬化的疾病伴有炎症因子的产生和释放。<sup>1</sup> 血管壁上的斑块内含免疫细胞和血小板，它们会产生调节粘附和脂质摄取分子。动脉粥样硬化可以通过饮食、活动和药物来控制；然而，仍然有必要了解炎症过程失调的潜在原因。<sup>2,3</sup> 对炎症等了解，有助于找到更好的方法来控制类似疾病。



## 流式在线配色工具

解剖慢性疾病炎症背后的复杂性需要分析免疫细胞、细胞因子或其他蛋白质中的标记物。<sup>4,5</sup> Invitrogen™流式在线配色工具使配色设计更加简单，无论您的经验水平如何，都可以帮助您更有效地设计panel。使用此工具，您可以分析您的目标标记物，并距您的下一个发现更进一步。

详情请访问 [thermofisher.com/order/panel-builder](http://thermofisher.com/order/panel-builder)

1. Voloshyna I, Littlefield MJ, Reiss AB (2014) Atherosclerosis and interferon- $\gamma$ : New insights and therapeutic targets. Trends Cardiovasc Med 24:45-51.
2. Libby P (2012) Inflammation in atherosclerosis. Arter Thromb Vasc Biol 32:2045-2051.
3. Xue-Qiao Z (2018) Pathogenesis of atherosclerosis. [online] Available at: [uptodate.com/contents/pathogenesis-of-atherosclerosis](http://uptodate.com/contents/pathogenesis-of-atherosclerosis)
4. Graves AJ, Padilla MG, Hokey DA (2014) OMIP-Q22: Comprehensive assessment of antigen-specific human T-cell functionality and memory. Cytometry A 85:576-579.
5. Cossarizza A and Cousin D (2015) Overcoming challenges in cellular analysis. Science 347: 443 [online] Available at: [sciencemag.org/custom-publishing/webinars/overcoming-challenges-cellular-analysis-multiparameter-analysis-rare?\\_ga=2.88382104.2078857589.1534352862-1479773893.1534352862](http://sciencemag.org/custom-publishing/webinars/overcoming-challenges-cellular-analysis-multiparameter-analysis-rare?_ga=2.88382104.2078857589.1534352862-1479773893.1534352862)



# 多重检测配对 要诀

## 网络研讨会: 提升您的流式细胞仪panel设计, 以获得更完整的数据并提高您的生产力



正确的对照可以左右您的多色流式细胞分析Panel。多参数流式细胞仪的最大挑战之一是选择荧光基团和抗体偶联物的正确组合, 以便将补偿和溢出调节的需求保持在最低限度, 同时不损害数据的质量和准确性。

在本次网络研讨会中, 您将了解包括正确对照和试剂滴定的价值, 并更好地了解荧光溢出和找到荧光光谱平衡的重要性。您还将获得免费的继续教育学分。

与Thermo Fisher Scientific应用科学家Carol Oxford一起学习:

- 为什么对每种试剂进行滴定至关重要; 构建正确的panel是一个迭代过程
- 重要的概念, 如溢出和扩散, 有助于您在多色设计中的荧光染料选择
- 确保您实验成功的小贴士

访问以下网址, 立即观看网络研讨会  
[thermofisher.com/flowdesignwebinar](https://thermofisher.com/flowdesignwebinar)

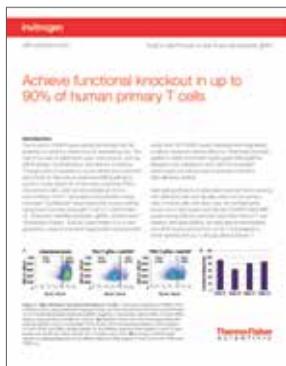
# 在基因水平上 影响免疫力

## 解开T细胞秘密的新方法

T细胞是适应性免疫系统的重要组成部分，高度多样化的T细胞受体(TCR)使T细胞能够特异性识别多种抗原。因此，研究TCR对于进一步了解T细胞的多样性和特异性至关重要。

对TCR基因进行测序和分析，以及使用CRISPR技术特异性编辑TCR的能力，将有助于未来的T细胞研究。从Invitrogen™ GeneArt™基因合成到CRISPR-Cas9基因组编辑产品，了解我们的合成生物学解决方案正在如何对试图突破T细胞工作界限的科学家们发挥真正作用。

## 实现高达90%的敲除率



### 原代T细胞中的CRISPR基因编辑

T细胞正在成为癌症免疫治疗研究的重要靶标。使用CRISPR技术获得高基因编辑效率可能具有挑战性，尤其是在原代细胞中。更具挑战性的是，原代细胞非常珍贵，并且通常难以获得和扩增。一个新的应用指南说明了原代T细胞基因编辑从细胞分离到编辑验证的完整解决方案。这包括使用Dynabeads磁珠试剂盒进行T细胞分离和活化，使用Invitrogen™ TrueCut™ Cas9蛋白V2、TrueGuide™

修饰合成sgRNA和Invitrogen™ Neon™ 转染系统进行基因编辑。

### 结合Cas9蛋白与sgRNA以实现高效编辑

与基于质粒的系统相比，TrueCut Cas9蛋白V2和TrueGuide修饰合成sgRNA具有明显的优势。转染后，CRISPR质粒在细胞中保留长达72小时，而蛋白质则少于24小时。这导致更少的脱靶效应或非特异性切割的情况。使用这种方法，研究人员可以绕过转录和翻译步骤，加快研究进程。

[thermofisher.com/tcellknockout](http://thermofisher.com/tcellknockout)



对CRISPR培训课程感兴趣吗？在4天内了解从设计到分析的所有步骤。

[thermofisher.com/crisprworkshop](http://thermofisher.com/crisprworkshop)

## 合作寻求前景光明的解决方案



**Peter Ebert, 博士  
科学家  
Adaptive Biotechnologies**

向我们介绍一下你们公司，你们想要达到的目标是什么？

我们实质上是一家免疫受体测序公司。我们进行高通量的T细胞和B细胞受体测序，并且我们利用适应性免疫系统的精确度来开发患者疗法。最近，我们与Microsoft™ Healthcare NEXt计划合作，将高通量免疫测序与人工智能相结合，以绘制整个人体免疫系统图。这种“抗原图谱”可实现更好地诊断；例如，如果您的T细胞库中有大量特定序列，则可能表明可以对特定抗原产生反应，这可能对诊断很有价值。

**GeneArt基因合成是如何帮助您的研究的？**

我们进行高通量的免疫受体测序，并且一次发现数百万个序列，最大的挑战是持续不断地验证这些序列。我们在GeneArt基因合成团队中找到了一个很好的合作伙伴，这使我们能够高效地制作这些构建体。我们只需列出序列，将其交给GeneArt基因合成团队，然后会在大约三周内得到最终要根据功能使这些序列在一系列载体之间穿梭。然后我们在不同系统中测试序列，以便最终将序列转移到目标细胞中。我们现在已经遇到了我们的瓶颈，因此拥有这个方便的合作伙伴非常有价值。

您认为这种伙伴关系在不久的将来会带来什么？

紧随基因工程、TCR操作和CRISPR试剂等新技术的步伐对我们来说至关重要。我们一直专注于核心技术，但是着眼于未来，我们确实是在尝试新的技术——然而，目前这些都是探索性的。但话说回来，拥有一个像GeneArt [基因合成]这样的合作伙伴给我们带来新的技术，帮助我们在短时间内做一些新的尝试，这对我们来说非常有价值。



# 五个提示



定制抗体

HRP  
二抗

抗原

一抗

Alexa  
Fluor二抗

偶联一抗

## 寻找合适的抗体

抗体应用于各种研究领域，其性能和一致性会对您的研究结果产生直接的影响。使用这五个提示来简化您的抗体选择，为成功做好准备。

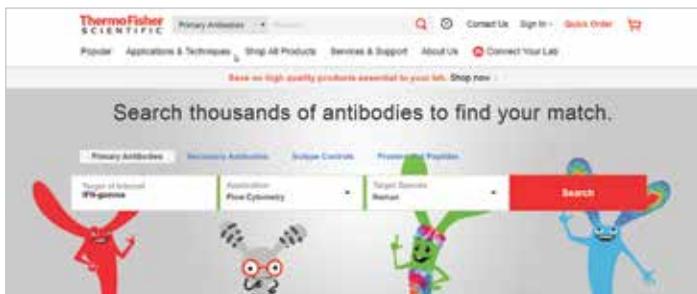
超过85000种抗体的搜索，尽在 [thermofisher.com/antibodies](https://www.thermofisher.com/antibodies)

\* The use or any variation of the word "validation" refers only to research use antibodies that were subject to functional testing to confirm that the antibody can be used with the research techniques indicated. It does not ensure that the product(s) was validated for clinical or diagnostic uses.

## 提示1

## 标记抗体搜索引擎

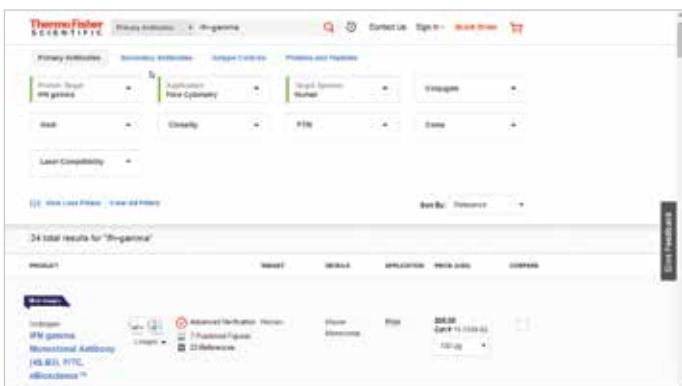
输入您的目标靶标并根据实验需要的应用和靶标种类缩小结果范围。



## 提示2

## 通过筛选优化搜索结果

通过抗体宿主种类、克隆性、翻译后修饰特异性和其他筛选项修改和缩小结果范围。



## 提示3

## 考虑已经过验证的抗体\*

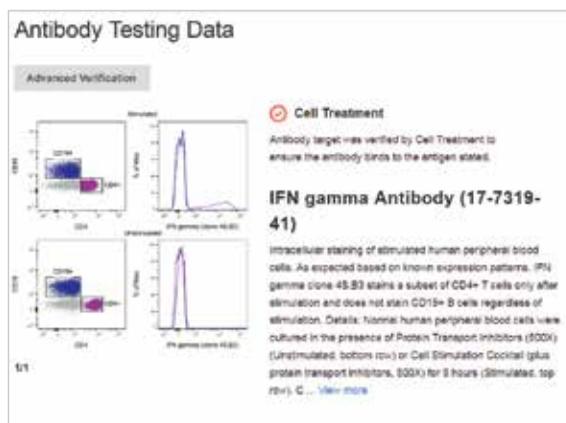
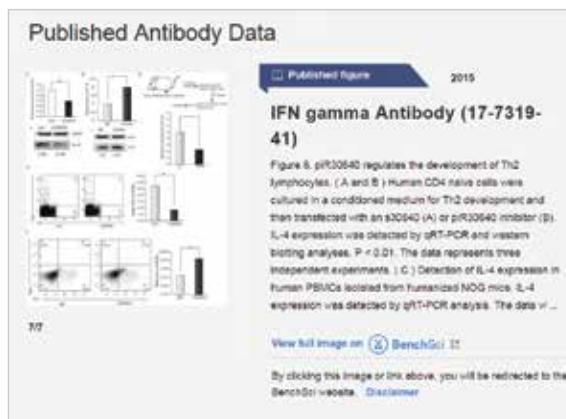
“高级验证”图标表示已对抗体进行靶标特异性和用于某一特定应用的测试。



## 提示4

## 查看多个来源的抗体应用数据

我们发布的抗体数据页面通过与BenchSci™平台的合作，提供了超过50000张图像，显示了来自同行互查期刊的应用数据，以及我们自己广泛的抗体测试数据。



## 提示5

## 在已出版的文件中验证您的抗体性能

根据应用组织的参考文献提供科学期刊引文的链接。



# 5个常见的PCR误区

辟谣

## 1 任何一种DNA聚合酶都能满足PCR扩增

**真相：**具有挑战性的DNA样品(例如，长片段、复杂样本、高GC含量或含抑制剂样本)的成功PCR通常需要强劲的DNA聚合酶。在为您的应用选择PCR酶时，留意酶的热稳定性、持续合成能力、保真度和特异性。

[thermofisher.com/pcrenzymes](http://thermofisher.com/pcrenzymes)

## 2 使用不同的DNA聚合酶时，无需更改PCR方案

**真相：**当使用不同的DNA聚合酶时，PCR方案可能需要修改。例如，DNA变性、引物退火和DNA聚合的时间和温度在经基因工程改造的DNA聚合酶和基于Taq的DNA聚合酶之间可能会有变化。

[thermofisher.com/platinumsuperfi](http://thermofisher.com/platinumsuperfi)

## 3 只要退火温度在45°C和55°C之间，大多数PCR扩增都会成功

**真相：**为最大限度地提高产量和特异性，通常需要优化每个待扩增DNA片段的引物退火温度。为了最大限度地减少对温度优化的需要，可以考虑使用60°C通用退火的DNA聚合酶。

[thermofisher.com/platinumiiataq](http://thermofisher.com/platinumiiataq)

## 4 梯度加热模块是优化引物退火的最佳技术

**真相：**由于泳道之间的热相互作用，当在PCR中进行引物退火的优化时，梯度加热模块上的温度更多的是以S型曲线的形式变化，而非真正的线性梯度。为了更精确地控制温度，可以考虑具有三个或更多分段金属模块的热循环仪，每个金属模块都具有单独的加热和冷却元件。

[thermofisher.com/veriflextechnology](http://thermofisher.com/veriflextechnology)

## 5 任何PCR塑料耗材都可用于快速PCR方案

**真相：**低容(高度降低)和超薄壁(比标准塑料薄50%)的PCR塑料耗材专用于运行快速PCR。较矮的设计使反应体系上方的空间得到最大程度减少，可降低蒸发的影响并提高热传导效率。薄壁进一步减少了隔热层，从而实现更快更强劲的扩增。

[thermofisher.com/pcrplasticsselection](http://thermofisher.com/pcrplasticsselection)

有关PCR酶，PCR塑料耗材和热循环仪的更多技术资源，请访问

[thermofisher.com/pcreducation](http://thermofisher.com/pcreducation)

# 演讲技巧

## 如何谈论自己的成功

您的个人品牌是通过您设计和传达科学之旅的方式建立的。



### 游说

我们指的是“电梯游说”。如果你有30-60秒的时间说出你的故事和科研成果，你会说些什么？

1. 问问自己，你想让陌生人了解的关于你和你的工作的三件事是什么。
2. 当你开始游说时，先从要点开始。越早说出你最想传达的东西，就越好。
3. 强势开始，强势结束。第一印象非常重要。提前决定你想怎样干脆地结束谈话。示例：延伸至LinkedIn™平台好友或要一张名片。



### 海报

科学海报可以成为研究人员的骄傲。它是您最近成果的快照，也是指导观众完成浏览您的科学旅程的便捷视觉辅助工具。

1. 使用海报标题作为海报的广告来吸引注意力。详细信息可以包含在您的结论中。
2. 说到结论，考虑提升其视觉上的水平。结论常常被埋没，但它们可能正是让观众理解要点的要素。
3. 图像和数据也会说话。通过使用图形图例和数据标题为您的观众提供快速“外卖”信息，从而实现目标。



### PPT

PowerPoint演示文稿格式全面且灵活，可让您向观众讲述精心准备的故事。使用这些最佳实践提前做好计划：

1. 要有观众同理心。你知道你要将它呈现给谁吗？围绕以下问题设计内容：他们需要多少背景？多少情境？对他们来说最有趣的是什么？你需要他们知道什么？
2. 每张幻灯片使用一个概念。据说，如果观众需要10秒以上的时间理解你的幻灯片，那么你的展示就已失去作用了。
3. 保持简约。使用艺术字和特效会很诱人，但这些都往往会分散注意力。选择一致的颜色并在图片可以优化效果时添加图片。充分利用留白。



# 学无 止境

通过教育的力量将研究提升到新的水平

想尝试不同的分子生物学技术？需要温习一下你的专业知识？回顾分子生物学基础知识如何？Invitrogen™分子生物学学习园地是PCR、逆转录、克隆和感受态细胞应用以及电泳方面的最新技术的一站式资源中心。这些学习资源提供丰富可靠的技术内容，专为分子生物学研究初学者和资深分子生物学家设计。

访问 [thermofisher.com/molbioschool](https://www.thermofisher.com/molbioschool)，看看你能学到什么。

## 影响客户

Invitrogen分子生物学学习园地是教育内容的绝佳来源，帮助全世界了解分子生物学的基础知识。在过去两年中：

- 全世界有超过100万科学家访问我们的内容，访问量超过200万次
- 分子生物学手册已被下载超过23000次

学习园地的内容信息量大且教育性强，研究人员的反应异常惊人：

“保持优秀的工作！PCR课程太棒了！”

“非常有趣的文章”

“哇哦，谢谢”

“了不起”

“很有教育意义”

研究人员以各种方式使用这些内容，并在全球范围内使用。例如，日本的科学家以各种方式使用了学习园地的教育模块：

“我们希望扩大研究范围”

“我们正在推出一个新系统，并用它来审核理解并确认操作程序”

“实验室新人教育”

“检查基础知识，看看还有什么是你不知道的”

“有助于解决当前的实验问题”

无论是何需求，Invitrogen分子生物学学习园地都是一个很好的工具，它帮助您和您的实验室扩展您在分子生物学领域的现有技能。一定要去探索这些功能。

[thermofisher.com/molbioschool](http://thermofisher.com/molbioschool)

## 视频教学

有时，没有什么能比视觉呈现更好地解释科学原理。在过去两年中，我们的教育网络研讨会帮助了近3000名研究人员；在YouTube视频社区，仅基于PCR的基本视频已被查看超过30万次。以下是实际用户的评论：“我希望生物教科书解释得跟这些视频一样好”

“哇哦，这个视频做得真好。感谢你们以快速且易于理解的方式向让我了解PCR是什么”

“非常非常有帮助”

“简单而且棒极了”

准备好充更多电了吗？探索我们提供的超过65个分子生物学视频和网络研讨会，主题涵盖所有基础知识、方案、故障排除以及有助于您更快获得答案的有用提示和技巧。

[thermofisher.com/molbiowebinars](http://thermofisher.com/molbiowebinars)

[thermofisher.com/molbiovideos](http://thermofisher.com/molbiovideos)





赛默飞公司生命科学部主办的原创杂志，旨在为生命科学界的同事们提供最新的技术进展、全面多层次的学习资源，也成为同行分享经验故事的园地。更重要的是，我们相信：将科学与乐趣结合才是第一生产力。

## Science + Entertainment = Scientainment!

关注微信公众号“赛默飞生命科学”，申请纸质版的Life in the Lab 杂志



扫描左方二维码  
免费下载/订阅  
最新一期电子版杂志



Life in the Lab is published quarterly by Thermo Fisher Scientific.

[thermofisher.com/lifeinthelab](http://thermofisher.com/lifeinthelab)



赛默飞  
官方微信



赛默飞  
生命科学官方微信

免费服务电话：800 820 8982/400 820 8982  
信息咨询邮箱：[cnbidmarketing@thermofisher.com](mailto:cnbidmarketing@thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC