

GE医疗中国

中药制药创制系统

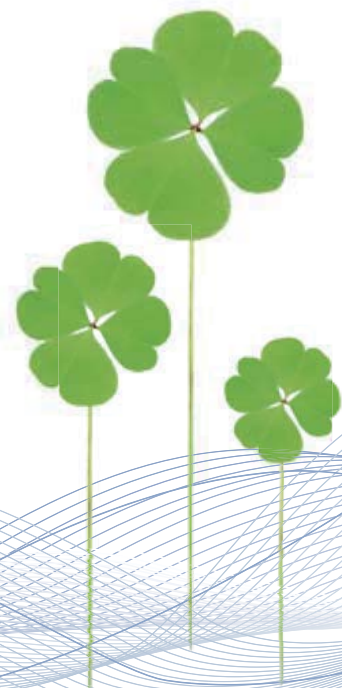
解决方案



GE梦想启动未来

healthymagination

- 如何选择并应用中药筛析过滤的滤材?
- 如何解决“大、黑、浊”的问题，快速澄清中药粗提液?
- 如何去除产品中的内毒素?
- 如何进行更快速、安全的分离纯化制备?
- 如何实现工艺稳定放大?
- 如何确保色素和热原的有效去除?
- 如何快速、有效确认中药有效成分的作用靶点?
- 如何分离、鉴定中药中的有效成分?
- 如何进行中药成分作用机制的研究?
- 如何筛选单方或复方中药作用的潜在靶点，如何确定中药治疗疗效、优化中药药剂配伍?
- 中药毒理的细胞学研究
- 如何选择为中药企业QC实验室选择高效率和高质量的设备和耗材?



序言

“民族的，一定是世界的。”几千年来，中医中药为中华民族的繁衍生息和生命健康做出了重大贡献，在经济全球化、回归自然的热潮涌动的今天，中医药更以独特的方式，以效果确切、毒副作用小、治疗疑难杂症等诸多优点备受关注。随着科技的飞速发展，中医药又广泛地用于医药、化工、保健、美容等领域。

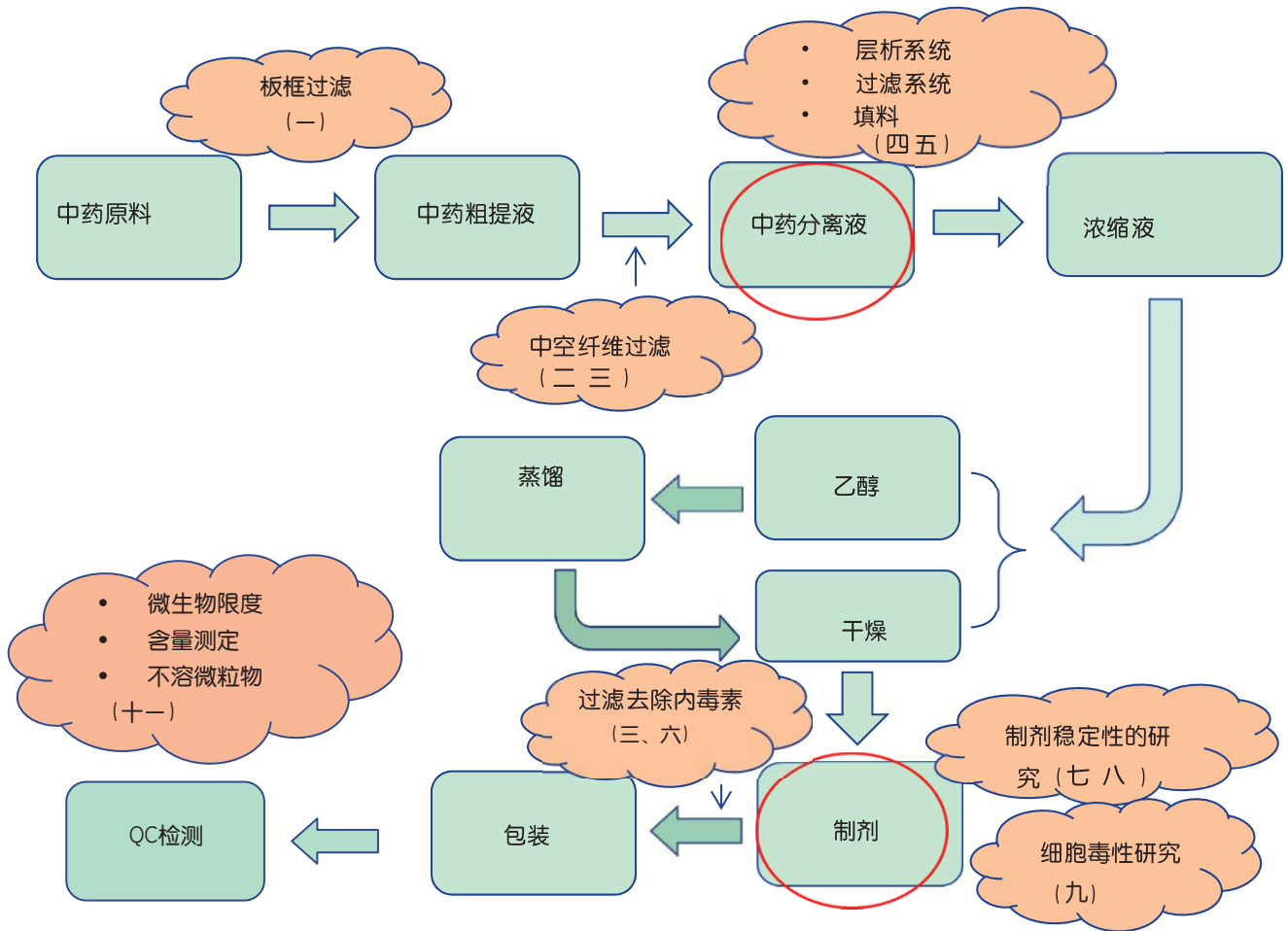
中医药近年来，特别是入世后与国际接轨的10年间，无论从产业规模还是产业水平来讲都得到了较大提升，越来越多的品种走出国门，得到全球范围内的广泛认可。但随着国际化程度加深，对于中药标准、特别是制造和检定的要求也在不断提高，技术性壁垒随之不断出现，中药全面现代化势在必行。

中药现代化30年前就开始提出，但其发展并非一路坦途。直到上个世纪90年代中后期才形成真正意义上的“中药现代化”概念。通过制定和实施GMP、GAP、指纹图谱等一系列规范化的制度，并不断结合现代制药技术，使得中药现代化逐渐走上正轨。自1997年科技部推出了“中药现代化科技行动”以来，中药现代化得到各级政府和相关管理机构的不断重视：从“十五”至今，中药现代化一直被列入重大专项；2003年开始，国药局开始推行GAP；截至2009年，有11个中药现代化科技产业基地获得了科技部授牌；2011年底，中医药管理局提出了“中医药事业发展“十二五”规划”，对于中药标准化给出了非常具体的要求；国务院办公厅在2012年12月29日发布的《生物产业发展规划》中，也把提高中药标准化发展水平、形成现代质量控制体系、加强中药制药过程的关键技术开发等中药现代化实现的关键点列入了较高地位。SFDA在今年1月18日最新出炉的《天然药物新药研究技术要求》中对原料药、提取物、制剂、药学、药理毒理和临床研究均给出明确规范，并强调了对天然药物的研发生产应进行全过程质量控制：包括稳定工艺、明确关键设备、建立适宜的检测方法并完备质量标准，以确保天然药物上市后质量的稳定均一。

过去中药不被国际接受，主要原因是成分不清、药效不明、质量不可控。引入了指纹图谱技术，使中药质量从不可控到可控，用数据说话。近期更有多家中药企业品种叩开了美国FDA的大门，国际化进程不断突破。

众多事实表明，以现代化和高技术为特色的安全、高效、稳定、可控的现代中药才是中医药发展的根本保障，而传统中药材的种植、加工、炮制方法以及经营模式，必然在中药现代化进程中发生种种变化。如何实现对中药安全性及有效性的合理评价是目前中药质量评价体系面临的主要难题。中药质量的优劣直接影响其临床疗效，缺乏客观、科学的质量评价标准已成为制约中药现代化的一大瓶颈。中药的制备工艺对中药的质量具有很大影响，提取纯化是其中的重要环节。建立规范化的中药提取、分离、分析共性技术平台，是中药现代化的重要基础，也是中药现代化的重要标志。

在中药的研究过程中，我们往往会被以下常见问题所困扰：如何解决“大、黑、浊”的问题；如何更加快速的拿到有效成分；如何实现工艺稳定放大；如何确保色素和热原的有效去除；如何实现自动化；如何更好的保持制剂稳定性等等。“工欲善其事，必先利其器”。在中药现代化中，一方面不仅要积极采用新方法、新技术、新工艺，而且要加强对新应用技术的科学性和合理性等基础研究；另一方面对简单易行的中药传统提取分离分析技术实现规范化、自动化和智能化改造和提升，也是非常必要的，以保证制剂质量和临床疗效的稳定性，取得事半功倍的效果。



GE Healthcare 生命科学部业务主要包括基因科学、蛋白质科学、细胞和分子成像，药物开发和工业生产等。GE Healthcare 生命科学部旗下享誉全球的ÄKTA 纯化平台、Biacore & Microcal 非标记分子功能分析平台、以及高分辨率、高内涵活细胞IN CELL 分析平台均处于全球领先地位，我们始终如一致力于提供最先进的产品和技术用于中药的药理、药效和作用靶点研究以及中药TCM 分离纯化中的全面解决方案。

目 录

中药制药创制系统解决方案技术篇	1
一 如何选择并应用中药筛析过滤的滤材?	2
二 如何解决“大、黑、浊”的问题,快速澄清中药粗提液?	3
三 如何进行更快速、安全的分离纯化制备?	5
四 如何实现工艺稳定放大?	10
五 如何确保色素和热原的有效去除?	11
六 如何快速、有效确认中药有效成分的作用靶点?	12
七 如何分离、鉴定中药中的有效成分?	14
八 如何进行中药成分作用机制的研究?	15
九 如何筛选单方或复方中药作用的潜在靶点,如何确定中药治疗疗效、优化中药药剂配伍?	18
十 中药毒理的细胞学研究I	20
十一 中药毒理的细胞学研究II	23
十二 如何选择为中药企业QC实验室选择高效率和高质量的设备和耗材?	28
仪器技术篇	31
经济实用,性能优良的膜过滤系统VERSA flux	32
既可以分析也可以制备,快速,方便得进行无人看守的自动化提取制备ÄKTA pure	33
半自动层析系统 VERSAprocess	36
高效、可靠、稳定的工业层析柱VERSACHROM	37
等温滴定量热仪	38
iTC200 等温滴定量热仪	38
Auto-iTC200 等温滴定量热仪	39
VP-ITC 等温滴定量热仪	39
微量热差示扫描量热仪 (DSC)	40
VP-DSC 差示扫描量热仪	40
VP-Capillary DSC (Auto & Manual) 差示扫描量热仪	40
Biacore 产品介绍	41
Biacore T200	41
Biacore 3000	42
Biacore X100	42
Biacore 4000	42
全套蛋白质组学解决流程系统	43
Cytell全自动细胞成像分析仪	46
IN CELL2200	47
IN CELL6000	48

中药制药创制系统解决方案

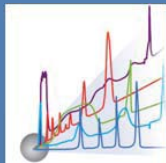
技术篇

GE Healthcare

生命科学部



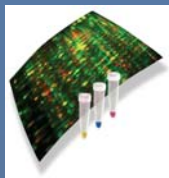
膜分离技术



层析分离技术



非标记生物物理技术



蛋白质组学技术



细胞技术

现代膜分离技术在TCM中的应用

一、如何选择中药筛析过滤的滤材？

在中药制药工艺中，药液的过滤分离是一项非常重要的精制工艺过程。在口服液、注射剂的生产中尤为重要，其中筛析过滤往往成为第一道常规工艺，常用于除渣过滤和提取液的粗过滤。用于筛析过滤的滤材常用滤布、滤棉和滤纸，其中棉纤维滤纸的吸附性能更好，尺寸裁剪灵活，较易大面积对大体积料液进行过滤分离，尤其能够吸附大量胶质、腊质、油脂、色素等，防止其在后期环节形成沉淀。筛析过滤的滤纸（通常是大张滤纸或卷筒滤纸）必须是纸张组织均匀疏松、有稳定的过滤速度和可以选择的颗粒保留度，必须是较低灰分的100%棉纤维滤纸，纸质纯净，不添加任何湿强剂，不引入化学杂质和木质素等。

Whatman-双圈滤纸采用100%纯棉纤维制成，无添加剂或湿强剂成分，表面光滑避免了纤维的脱落，快速、中速和慢速三种滤纸都有理想的颗粒截留效果，目前在西药的粗滤到中药的粗滤、细滤等工艺环节大量应用，如红参、人参茎叶、丹参、降香、金莲花、桑菊等，图1是双圈大张滤纸的图片。



图1 大张滤纸、卷筒滤纸和圆片滤纸

为了更好地去除中药液中非药用成分和杂质，定量棉纤维滤纸较定性滤纸的灰分更低（ $<0.009\%$ ），滤材纤维更佳纯净，无需担心滤材本底背底元素的溶出，Whatman棉纤维滤纸的纤维原料极佳，灰分更低（定量滤纸灰分低至 $<0.006\%$ ），更适合中药料液的大体积过滤，尤其是对纯度要求最高的中药口服液和注射液。

针对中药提取液粘度大、杂质多而且成分复杂的特点，选择在离心分离前使用漏斗式过滤机对药液预处理，可同时完成大颗粒的去除和部分目标物质的吸附，过滤介质可选用棉纤维滤纸和玻璃纤维滤纸，如图2所示。

因棉纤维滤纸最高仅耐受 140°C 高温，负载力较低，高温使纤维结构变化和穿漏，仅能去除大于 $2\mu\text{m}$ 颗粒，玻璃纤维滤纸恰好弥补了棉纤维滤纸的不足。Whatman给全球供应玻璃纤维的长达70年以上，具备极丰富的技术和应用经验。Whatman玻璃纤维滤纸极大地拓宽了过滤材质在大规模中药料液粗滤和细滤过滤中应用。

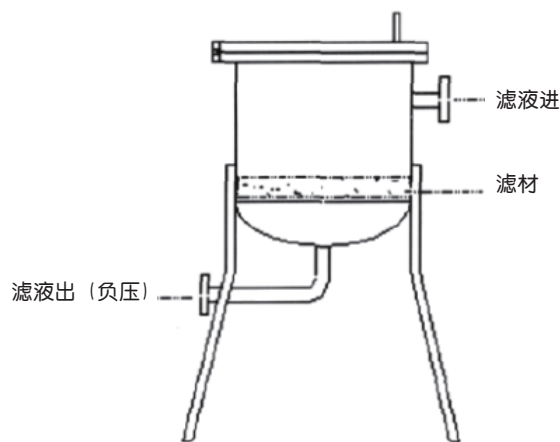


图2

二、如何解决“大、黑、浊”的问题，快速澄清中药粗提液？

作为层析技术的开创者和膜分离技术的领先者，GE Healthcare 可以为生物蛋白药物的大规模生产提供先进高效、快速可靠的生产工艺和生产设备，在生物制药中涵盖了从发酵液细胞收集、包涵体收集和洗涤、中空纤维超滤以及复性液的澄清，复性液上清浓缩、大规模层析纯化、终产品晶体收集等一系列单元操作。我们也在TCM 中尝试了对不同中药提取液的澄清步骤，取得了非常好的效果，GEHC 可以提供使用Versa process 大规模层析系统和Versa Flux 切向流膜分离系统实现高效的大规模自动化生产，可以为TCM 制药企业提供可线性放大的完整解决方案。

GE Healthcare 具有近40 年的膜制造经验，原A/G 公司是世界知名的中空纤维膜制造商，先进的膜制造工艺保证了中空纤维膜具有极佳的物理化学稳定性，不仅可以承受较高的压力，还可以耐受0.5-1N NaOH 50 度和次氯酸钠的在位清洗，水通量恢复良好，寿命长，显著降低生产成本，同时有利于内毒素的控制。

GE Healthcare 的中空纤维膜具有开放式的孔道，可以处理固含量高达50%的料液而不堵塞，高密度发酵液，可以直接用中空纤维微滤膜进行菌体收集和洗涤，澄清，而无需事先进行离心或预过滤，显著降低了大型高速连续流离心机的设备投资成本和高昂的转子日常维护成本，或还减少了反复离心清洗菌体的步骤。此外 GE Healthcare 可以用在传统提取液的澄清步骤，这种先进的膜分离技术可以比传统的提取技术提取率高，而且料液质量非常好，可以为后续的层析的重复性以及填料的寿命打下良好的基础，同样，中空纤维也适合进行包涵体的收集以及复性液的澄清、浓缩和晶体收集等单元操作，在国内同等规模企业中成功线性放大用于日常的生产。GE Healthcare 中空纤维膜采用统一的流路设计和结构，提供直接而可靠的线性放大，方便前期工艺开发和设备选型。

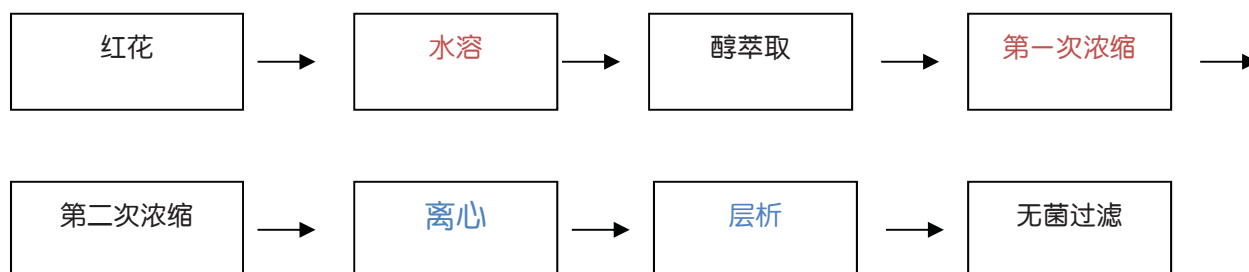
GE Healthcare 的膜产品采用先进的制造工艺，膜孔径更均一，因此可以有效截留杂质，最大程度保护层析填料的寿命，从而有效降低整个工艺的生产成本。目前中空纤维膜已经广泛用于单抗、病毒类疫苗(如乙肝疫苗、狂犬疫苗)、抗体、类病毒颗粒HPV 疫苗、重组蛋白药物，TCM 等国内外各个生物制药领域。



膜过滤法用于TCM的实例研究

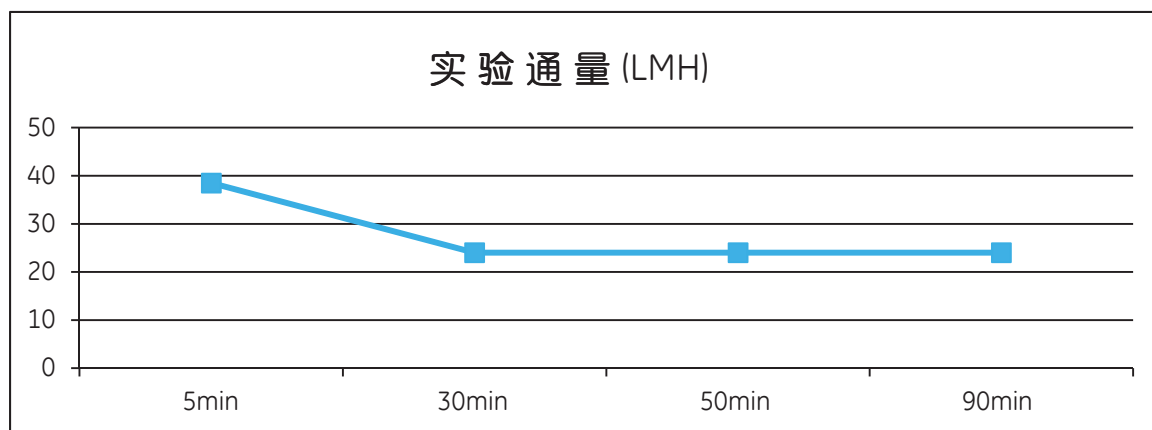
1.膜过滤法和离心法制备红花提取物的实验研究

红花药物生产的一般流程



在传统的生产流程中，离心技术经常会在层析前面进行使用，目的是确保在上层析之前料液干净，但是离心技术只能去除颗粒大于 $1\mu\text{m}$ 的颗粒，小的颗粒以及碎片等并不能完全去除，我们尝试了GEHC 中空纤维的微滤技术，并取得了良好的结果

实验数据



2.膜过滤法和水醇法制备柴胡提取物的实验研究

①柴胡的水提取

取柴胡100g，粉碎成粗粉，加8倍量水，加热煎煮1.5小时，滤过；药渣再加7倍量水加热煎煮1.5小时，滤过，合并滤液，静置取上清液，共得2500mL。

②醇沉

取柴胡水提取液1000mL，减压浓缩至比重1.15(60°C)，加乙醇至含醇量70%，搅拌均匀，冷藏过夜，取上清液，得763mL。

③膜过滤

I 微滤膜：CFP-6-D-4MA 0.65micron 460cm²取1500mL 提取液进行微滤，流速20mL/min，每次加300mL 水，进行3次洗滤，合并滤液，即得

④含量检测方法 按2005 版药典照紫外分光光度法测定。对照品溶液的制备 精密称取柴胡皂苷a 对照品适量，置容量瓶中，加甲醇制成每1mL 含0.4818mg 的溶液，即得。

供试品溶液的制备：分别取待测样品20mL，以水饱和和正丁醇30mL 和20mL 提取2 次，合并正丁醇相，水浴蒸干，残渣加甲醇溶解并定容至50mL。

分别精密吸取供试品溶液2mL，对照品溶液0.2mL，水浴蒸干，残渣加1%对二甲氨基苯甲醛的乙醇溶液0.2mL，水浴蒸干，残渣精密加磷酸8mL，70°C水浴30min，冷却，以水为空白对照，在545nm 波长下测定吸收度，测定，即得。

⑤ 实验结果

样品名称	转移率 (%)	药液固型物量 (g)	固形物中柴胡总皂苷含量 (%)
水提取液	100	13.64	2.24
0.65 滤液	85.1	8.34	3.12
醇沉上清液	69.5	8.48	2.68

备注：从结果看，柴胡提取液的微滤分离效果较好，转移率与固形物含量与醇沉工艺相当。

⑥ 小结

膜过滤技术分析表

样品名称	性状	目标物质转移率	固形物含量
提取药液	颜色深、有浑浊	100%	高
微滤液	清澈透明	85.1%	与醇沉液相当
醇沉液	清澈透明	69.5%	/

膜过滤成本分析表

工艺种类	时间	耗材	工艺过程
微滤 460cm ²	2 - 4hr	膜材	过滤、浓缩
醇沉	12 - 24hr	95%乙醇	浓缩、醇沉、浓缩

对于柴胡来说，以主要功效成分柴胡总皂苷为考察指标，微滤工艺转移率高，工艺过程简单，仅需增加2~3次洗滤，基本可以除去大分子的淀粉、糖类、鞣质、油脂等。

所用仪器请参照32页

层析分离技术在TCM中的应用

三、如何进行有更快、安全的分离纯化制备拿到有效成分，自动化的进行中药有效成分的研究？

目前TCM 开发研究有两条途径。一条途径是从单一植物中提取一种有效成分(单体化合物)或提取物开发成新药。另一途径则是中药复方制剂的开发研究，这是中医药的主流。在此方面，我国占有优势。但目前我国的中药复方制剂尚未走向世界医药主流市场，难以参与国际竞争。关键在于长期以来缺乏被国际认可和接受的客观、严格的标准和规范，以及相应的基础研究。按照美国于2004年6月9日正式颁布了植物药指导原则（Guidance for Industry Botanical Drug Products），对于复方制剂，每味药相当于一个有效“成分”，要证明两种有效成分的组合好于单个有效成分，在研究阶段需要做拆方实验，首先分别纯化，然后研究其安全性和有效性。

SFDA 在今年1月18日最新出炉的《天然药物新药研究技术要求》中也提出：天然药物复方制剂是由多个提取物组成的制剂，各提取物应为已上市单方制剂的原料药。应采用主要药效学试验或毒理研究证明组方的合理性，



必要时应说明处方组成之间的相互作用。所以对天然药物快速、高效分离技术的开发研究，实现天然药物化学成分分离的合理化、高效化和集成化将会大大加快天然药物研究的步伐。

我国目前列入国家标准的中药注射剂有109种，其中有50种是复方制剂，组方在3味药以上的有34种，有的组方超过7味药、甚至多达10余味，即使单味中药，其已知化学成分也很复杂，少则10余种、几十种，多的上百种，这是当前中药注射剂研发难、不良反应严重的主要原因之一。目前，中药注射剂临床应用的最大阻碍来自医患对其安全性的担心。当前中药注射剂的工艺流程较为粗放，提取纯化技术较为落后，多为采用简单的“水煎醇沉法”，该法存在多种杂质不易彻底除尽、不良反应较多、有效成分损失较大、生产周期较长、产品稳定性较差、质量不易控制、药液受热时间长、能耗高等诸多缺点；有的品种单用或并用“蒸馏法”，此法虽然简便，但收集的是混合型挥发性成分，质量也难保证；同时生产设备较为落后。这些都会影响到中药注射剂的质量，临床疗效和安全性不能得到充分的保障。另外，中药注射剂中为了保证产品的稳定性或有效成分的溶解性，常常使用种类或浓度不恰当的助溶剂和稳定剂，也可能造成安全性问题。所以是否有更快速、安全的分离纯化制备方法、设备可以解决中药注射剂的安全问题的研究，成为中药注射剂急需解决的问题之一。



GE Healthcare 生命科学部集数十年的纯化经验，拥有凝胶过滤，离子交换，吸附层析，亲和层析，正相层析，反相层析等多种色谱体系，其中的Sephadex G 系列和Sephadex LH 系列， Sepharose (Q, DEAE, SP, CM) 系列和 Source 系列在中药有效成分的分离纯化过程中，能够提供快速有效的纯化策略。

GE Healthcare 生命科学部集数十年的纯化经验，拥有凝胶过滤，离子交换，吸附层析，亲和层析，正相层析，反相层析等多种色谱体系，其中的Sephadex G 系列和Sephadex LH 系列， Sepharose (Q, DEAE, SP, CM) 系列和 Source 系列在中药有效成分的分离纯化过程中，能够提供快速有效的纯化策略。

1、Sephadex LH-20 ---- 非常适合天然产物纯化的介质

Sephadex LH-20 在亲水性填料葡聚糖的基础上进行了交联，使其可以耐受各种有机溶剂，包括水相缓冲液，丙酮，乙酸乙酯，氯仿，二氯甲烷，四氢呋喃，甲苯和各种混合试剂，其分离的机制兼有了凝胶过滤、吸附层析和分配层析的性质。在天然产物的分离纯化过程中具有非常优良的表现，尤其是对于黄酮类的物质，相差几个羟基的成分在 Sephadex LH 20 上都能实现比较好的分离。

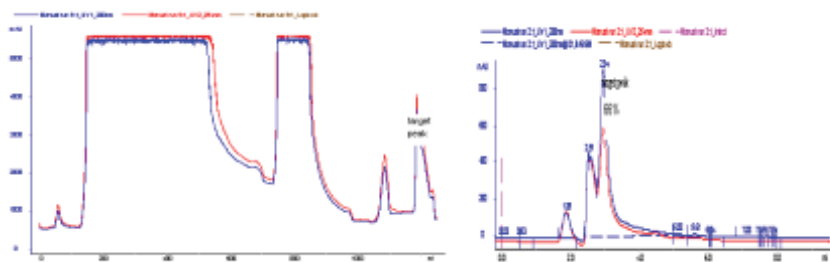


图 1 Sephadex LH 20 对迷迭香酸的纯化，一步可快速将迷迭香酸的纯度由3%提高至66%。

Sephadex LH-20 广泛地应用在黄酮类物质的分离纯化中，许多结构极为近似的黄酮及可根据所含羟基的数量、位置或氢键位置的不同，在Sephadex LH-20 上得到很好的分离效果。总体来讲黄酮所含羟基数量越多，与Sephadex LH-20 介质所形成的氢键数量越多，结合越强。目前已发表的纯化实例包括分离具有活血散瘀功效的红花中的槲皮素、芦丁、山柰酚、红色素等多种黄酮；分离用于肺燥干咳的麦冬中的麦冬黄酮；分离用于风湿痹痛的鹿蹄草中的儿茶素；分离有抗癌、抗炎、避孕疗效的紫草中的萘醌、苯酚；分离用于治疗肝炎的水飞蓟素等等。

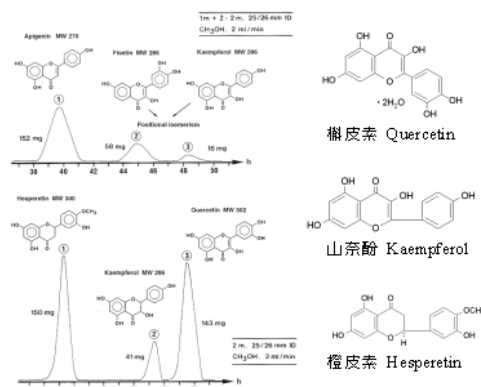


图 2 Sephadex LH 20 对黄酮类物质的纯化。

红花中红色黄花素和羟基红色黄花素具有活血化淤之功效；而大豆异黄酮是具双向调节作用的天然植物雌激素，近年广泛用于妇女更年期综合症、骨质疏松症的预防和治疗。利用Sephadex LH-20 也可分离红花中的黄酮醇类成分。利用AKTA 层析系统配合Sephadex LH-20 柱，可将40%的黄花素粗品、40 - 60%的大豆异黄酮半制成品，纯度提高到90%以上。此方法具有上样量大，洗脱时间短，纯化、检测过程全部自动化的特点，此两项工艺均已应用于大规模生产。

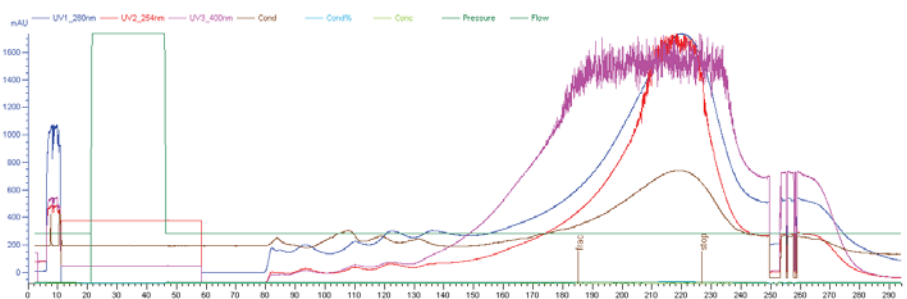


图3 Sephadex LH 20 分离制备红色黄花素。

2、离子交换层析---- 广泛被使用的层析技术

生物碱是来源于植物的含氮类的有机化合物，大都具有生物活性，为非常重要的中草药有效成分。离子交换是极有效的生物碱分离纯化的方法，具有选择性强，分辨率高，载量大，再加上离子交换的浓缩效果，特别使用于从大量低含量的样品中捕获目标单体，可获得高纯度的有效成分，工艺操作简单，可直接放大。如图4 所示五种生物碱在Sephadex SP 凝胶中有不同的表现。如利用实际的混合物样品，我们可将盐酸小檗碱，马钱子碱和粉防己碱进行纯化，如结合其它方法，就可获得高纯度的样品。

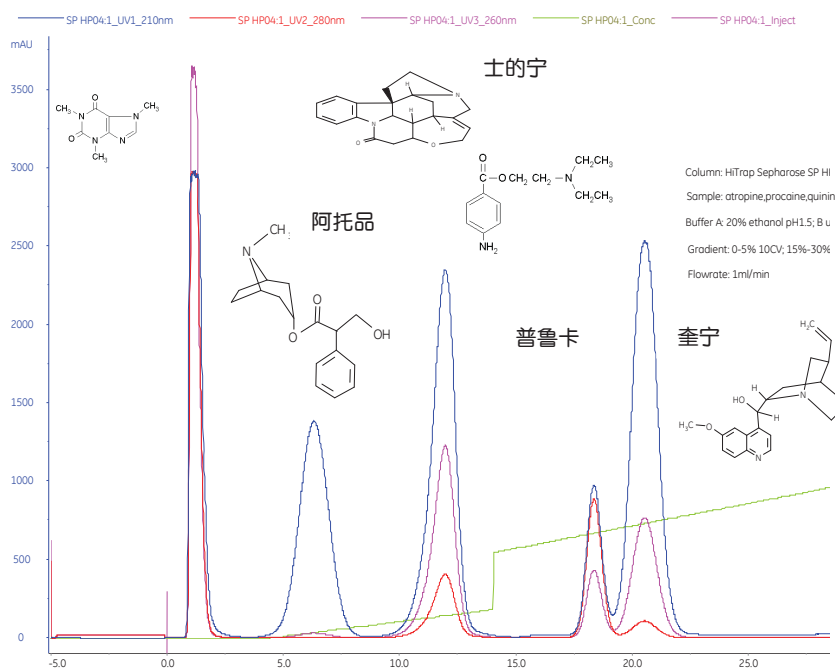


图4 五种生物碱在Sephadex SP 上的色谱行为，其洗脱顺序依次为咖啡因，阿托品，土的宁，普鲁卡因和奎宁。

生物体中的有机酸带有负电荷，我们可使用阴离子交换如Sepharose Q进行纯化，用Sepharose Q可纯化咖啡酸，阿魏酸，三七素，原儿茶酸，香草酸。

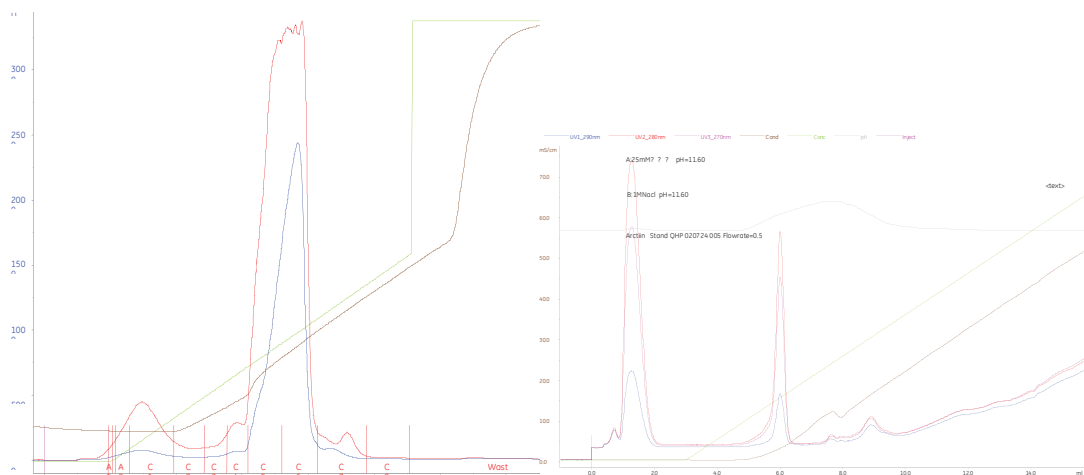


图5: Sepharose Q 纯化甘草酸和牛蒡子甙图谱

3、反相层析---- 天然产物常用的层析技术

天然药物的有效成分大都有一定的极性和非极性。所以反相层析是常用的一种提取单体化合物的有效方法。Source 系列填料以聚苯乙烯为基架，具极强的化学稳定性，可耐受强酸强碱，兼容pH 1-12，可用 1M NaOH 在位清洗和消毒，使用寿命长；具有分辨率强，选择性宽，载量高的特点；颗粒均匀，高流速低反压，推荐自行装填，非常容易放大。粉防己碱经离子交换第一步纯化后，第二步可使用Source 15RPC 纯化就可获的98%的 纯品，如图6 所示。

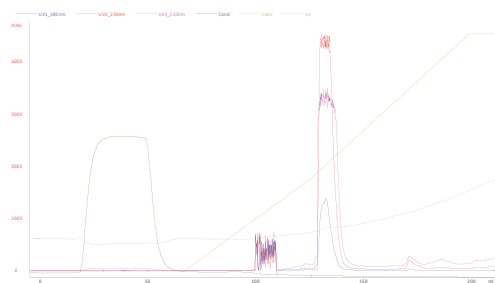


图6: Source 15 RPC 纯化粉防己碱图谱

与Source 系列填料配套的层析柱包含在实验室阶段使用的Tricorn 柱子和放大生产使用的Fineline 不锈钢柱子。



图7: 不同规模的层析柱，适合反相层析填料包括Source 15 RPC装填。

4、中药指纹图谱和工艺开发中的应用

图8 是使用ÄKTA 系统在中药指纹图谱和工艺开发中的应用（上海中药标准化中心合作项目），通过ÄKTA 编辑方法中的scouting 摸索功能，编辑了标准的方法，让系统自动运行得到的某些中药的指纹图谱：

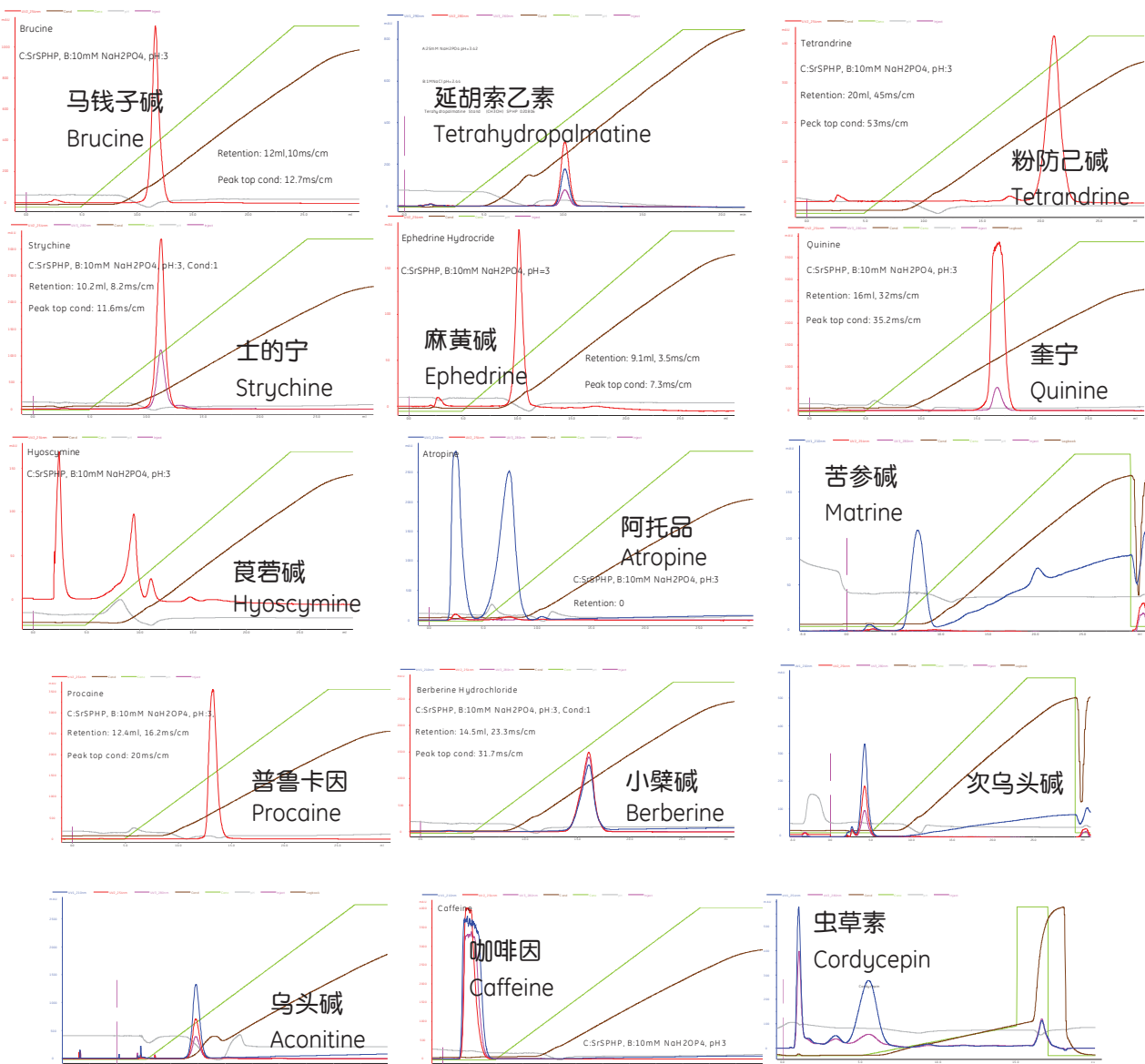


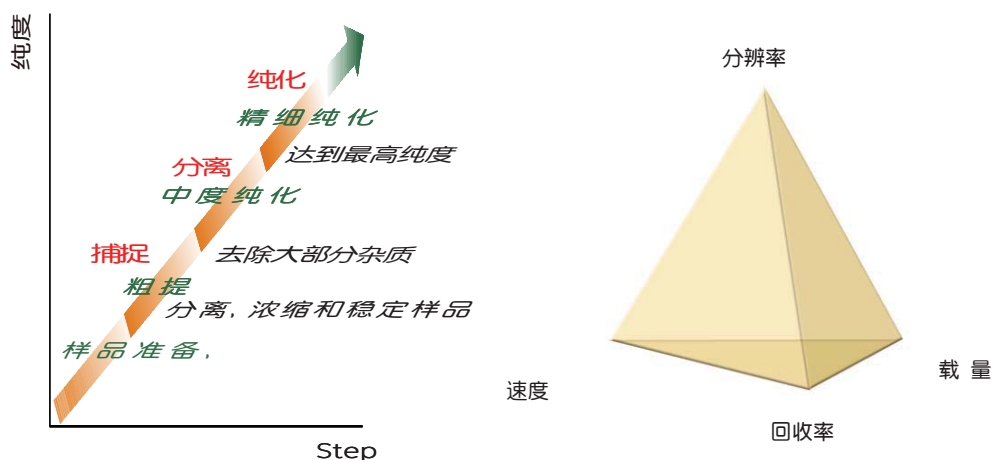
图8：部分中药有效成分的分离图谱。

所用仪器请参照33页

四、如何实现工艺稳定放大?

目前的中药活性成分纯化工艺主要来源于植物化学研究方法，多数工艺就是实验室研究技术的直接应用，生产工艺与研究技术等同，没有实质性的工艺优化和放大。由于纯化工艺采用研究技术，没有依据工业化生产的特点进行必要的优化和放大，许多精细的技术操作和过程判断完全依赖于操作者，且生产过程如实验室的科研一样以开放方式进行，车间如同传统的手工业作坊，多数难于实现自动化控制，在GMP车间内进行开放式手工劳动的现象普遍，如何有效地实施SOP和实现GMP管理困扰着生产中药单体的企业。

GEHC Life Science有着五十年的分离纯化经验，其根据不同活性成分的性质，把纯化分成了三个阶段（粗纯、中度纯化和精细纯化），并提出了四大要素（纯化的速度、载量、回收率和分辨率），在纯化中应该以企业预期的技术经济指标为指导，在四个要素中寻找平衡点，并最终达到我们的纯度要求。



以此理论为基础，设计合理的纯化策略。首先第一步为粗纯，常规采用一些比较粗的填料和可以浓缩的技术，如离子交换，即经济又适宜放大，随着纯化的进行，我们需要的分辨率越来越高，这就需要选用一些分辨率高的填料，如反相、正相硅胶、sephadex LH 20 和分子筛技术来达到我们所需要的纯度。通过这些纯化技术的有机结合，建立中药有效成分分离纯化的平台。下表列出了常规的中药有效成分的纯化平台。

类别	纯化平台建议
生物碱	阳离子交换+反相中高压 (SP HP +SOURCE) 如: 粉防己碱, 虫草素等
有机酸	阴离子交换+sephadex LH 20 (Q HP+sephadex LH 20) 如: 三七素, 迷迭香酸等
黄酮, 黄酮甙	阴离子交换(Q HP)+ 硅胶或 sephadex LH 20 如: 红花素, 葛根素等

皂甙	阴离子交换 (Q HP) +反相 硅胶 如: 柴胡皂甙等
多酚	硅胶正相+sephadex LH 20 如: 茶多酚等
动物小分子毒素	阳离子交换 (SP HP) +中压反相 如河豚鱼毒素等
萜类	硅胶正相中高压 如紫杉醇等
多糖	分子筛 (sephadex G 100,150 或阴离子交换 DEAE FF) 如: 香菇多糖和黄芪多糖

GE Healthcare 生命科学部，供应从ng 到Kg 层析纯化设备，并且实验室研究、中试和大规模生产的设备均采用同一控制平台Unicorn，保证了实验室工艺到生产规模的线性放大，已经成功运用在多种天然产物的生产过程中。特别是其提供的工业层析柱，独特的设计，使其在直径1米以上仍然保持样品和缓冲液的均匀分配，保证放大工艺和小试结果一致。下图为Chromaflow 1000 ——直径1米的Chromaflow 工业层析柱中加入有脉冲的染料样品，模拟样品的分离情况，从侧切图中可以看到，染料在层析柱塔板间分配非常均匀。性能卓越的工业层析柱是保证分离效果的首要条件。

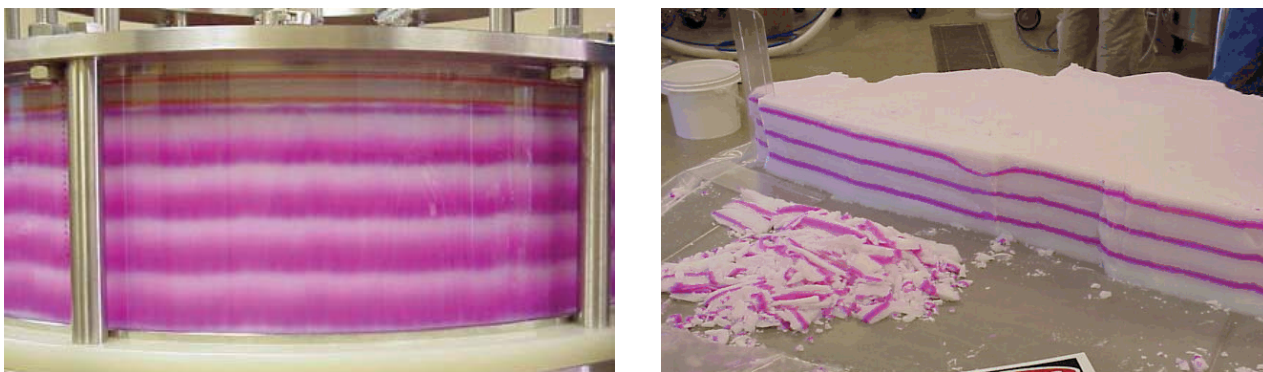


图9 色素在工业层析柱的分配图。所用仪器请参照36-37页

五、如何确保色素和热原的有效去除？

天然产物的粗提取物中常常含有大量的植物色素，一方面在层析过程中，采用紫外对目标物进行检测和追踪时，色素会掩盖掉目标物的信号，增加了纯化的困难程度；另一方面，随着中药要求的不断提高，在生产过程中，色素也成为质量控制的一个因素。阴离子交换 Q Sepharose FF 是去处植物色素的有效方法，比如，提取葛根素时，大量的色素也被提取出来，利用Q Sepharose FF 可对粗品进行第一步纯化，不仅大大提高了葛根素的纯度，而且除去了绝大多数色素，再使用Sephadex LH-20 进行精细纯化，就可达到纯度为95%以上的葛根素，如图10所示。另外，Q Sepharose FF 在一些注射用中药产品的生产过程中，作为最后一步，能够有效的去除各成分中的色素。



图10 Q Sepharose FF 去除色素，上柱后和清洗后的比较，样品上柱前和过柱后的比较。

中药产品中对热原物质的含量有着严格的要求，最主要的热原物质为内毒素，由于内毒素性质极不均一，给除热原的工作带来不少挑战。阴离子交换层析用于生物制品除热源已经在非常成熟的工艺，在中药产业中，也可以采用阴离子交换的方法进行热原的去除。除此之外，内毒素的类脂A 部份有很强疏水性，但疏水层析需用高盐缓冲液平衡，内毒素在高盐下容易凝集，大都不结合疏水层析介质，因此也可以选择合适的疏水层析介质结合目的物，而使大部分内毒素直接流穿被去除。

所用仪器请参照37页

六、如何快速、有效确认中药有效成分的作用靶点？

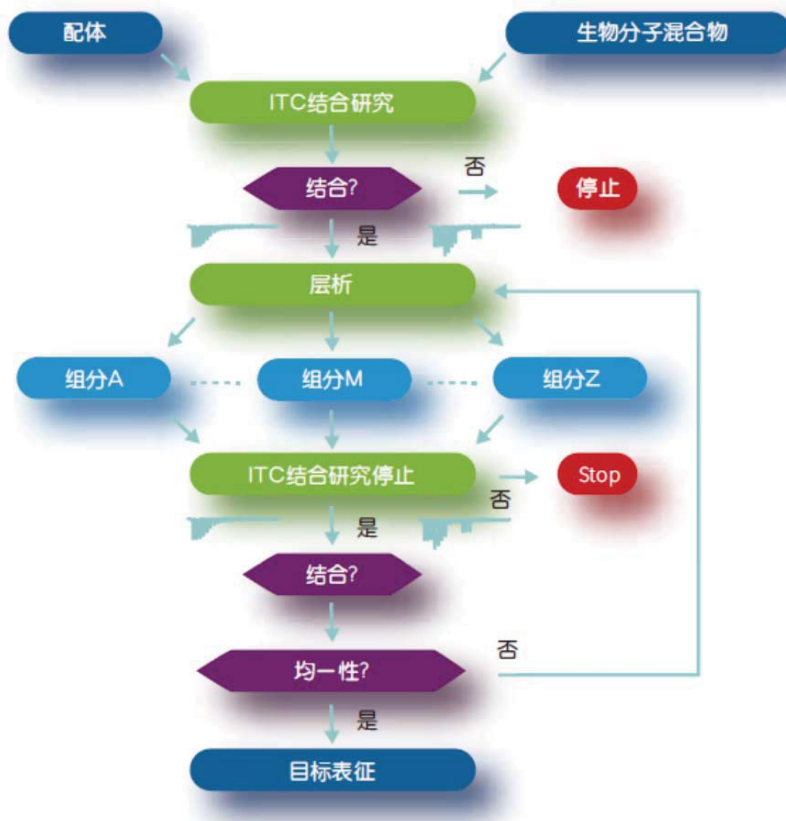
中药的活性成分及其作用机理尚不明确，是制约中药现代化、国际化的关键。采用生物技术研究中药进入机体内的代谢过程，进而了解中药结构的改变及所形成的各种成分变化，对于研究中药的作用机理具有十分重要的意义。中药提取物成分复杂且各组间可能存在的各种相互作用（协同作用、拮抗作用等），因而对其进行生物活性分析难度很大。Biacore 技术基于表面等离子共振（SPR）原理，可以对生物分子相互作用进行实时检测，而基于微量热的ITC 技术则可以测定生物分子相互作用过程的能量信息。目前，这两种技术已成为研究生物分子相互作用的标准技术。Biacore 和ITC 技术无需对样品进行标记，在检测时具有高灵敏度、重复性好、普适性好和样品消耗量少的特点，因而在现代药物研发过程中，包括中药的研究中得到越来越多的应用。

对于药物的作用机理研究，特别是在分子生物学层面上，确认药物靶点是至关重要的。只有真正搞清参与药物作用的靶蛋白，才能进一步阐明药物的作用机制和信号传导途径。尤其是中药复方药剂，可能存在多个有效成分和多个靶点的协同相互作用，因此有必要采用一种简单、快速的技术，确认药物活性成分对靶点存在特异性结合作用。

Biacore 能通过单次实验，研究化合物与多个靶标结合的特异性。将多个候选靶蛋白平行固定于传感芯片表面，药剂则流经芯片表面。通过对结合信号的检测（药物和靶点间的特异性结合会产生结合信号），可直接检测药物与靶标的相互作用，快速的确定候选靶蛋白中真正的药物作用位点。

在研究复方制剂祛毒增宁胶囊(ZL-1)对乙肝病毒的抑制作用中，研究者通过检测HbsAg 蛋白和多种中药复方中提取物的相互作用，确认人街草(JH)是有效组分，其通过对HbsAg 蛋白的结合作用，可有效抑制病毒颗粒在外周血中的释放。在胡桃提取物抗HIV-1 病毒的研究中，研究人员将GP-41 跨膜蛋白和HIV 整合酶这两个作用靶点蛋白固定于生物传感芯片上。应用植物化学柱层析等技术对胡桃进行提取分离，并进行相应的相互作用检测。实验结果表明提取物中的有效成分B 抗HIV 的作用靶点为HIV 整合酶，而有效成分E 对GP-41 跨膜蛋白和HIV 整合酶都有较好的抑制性。ITC 技术制备要求低（无标记、原位溶液、无分子量和无光学透明度限制）、通用性广，是药物研发的重要手段。采用ITC 技术不仅能直接定量评估分子间相互作用的亲和力的大小，而且能直接获相互作用的位点和比例和热力学参数。这些数据应用于中药研究领域，除了有助于有效鉴定药物的作用靶点，还使我们了解药物分子的作用机制和机理，这对于生物结构和功能、生物活性机理的研究是十分必要的。

药物苏拉明可以用于治疗非洲锥虫病的。研究人员使用ITC 追踪通过常规柱层析方法——例如凝胶过滤或离子交换——纯化靶标分子。他们从含有几百种蛋白和多肽的锯鳞蝰蛇粗蛇毒中鉴定出苏拉明的靶标ecarpholin S。研究人员在层析纯化步骤中插入多轮ITC 实验，并进行反复迭代，如下页所示。

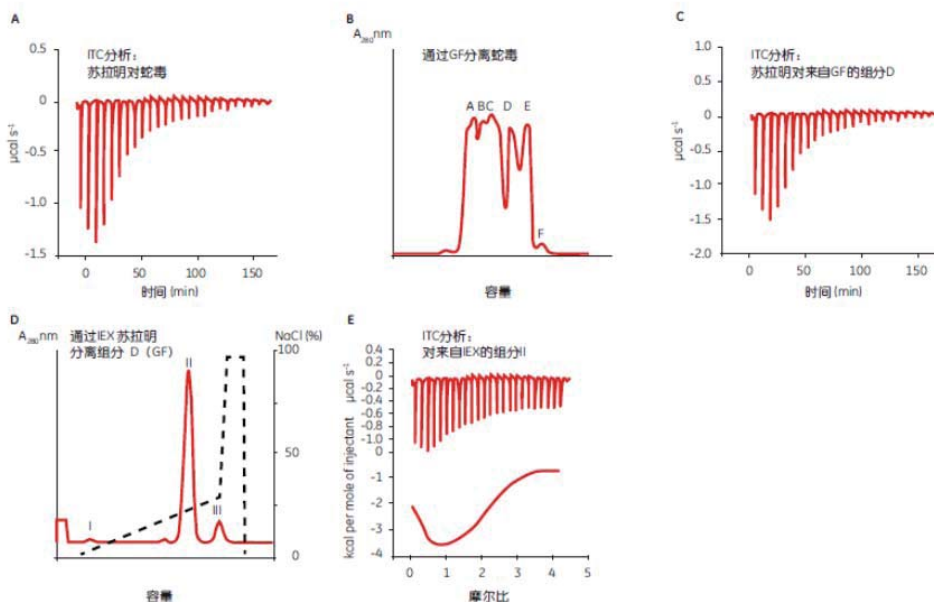


实验步骤如下：

ITC 第I 轮。第一步是验证苏拉明与蛇毒中组分的结合。在VP-ITC 中用苏拉明滴定锯鳞蝰蛇毒，获得了典型的曲线（图A）。

ITC 第II 轮。将锯鳞蝰蛇毒采用预装的Superdex 200 层析柱进行分离，并收集六个洗脱组分（图B）。然后用苏拉明在相同的条件下滴定每个组分（图C）。只有组分D 结合苏拉明。

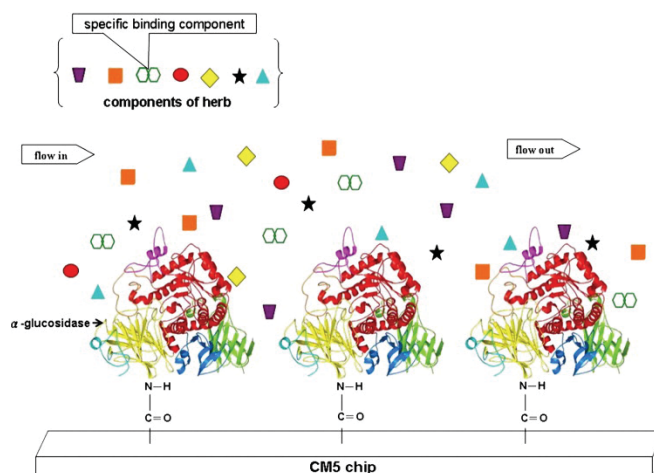
ITC 第III 轮。然后组分D 被上样到阳离子交换SP Sepharose HP 层析柱，并对蛋白组分进行收集和合并（图D）。再利用苏拉明分别滴定各个组分。在组分II 中发现结合苏拉明的分子，且被鉴定为ecarpholin S。SDS-PAGE 分析显示目标蛋白是纯的，可对ITC 所产生的数据进行拟合（图E），并推导出完整的热力学属性，包括相互作用的亲和力常数（KD）、反应化学计量比（N）、焓（ ΔH ）和熵（ ΔS ）。



所用仪器请参照38-42页

七、如何分离、鉴定中药中的有效成分？

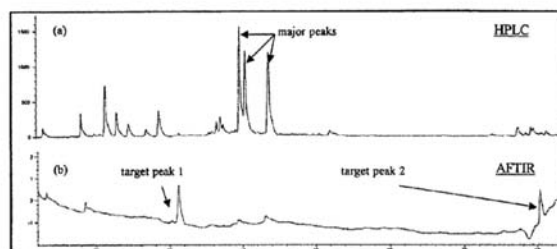
中药成分复杂，一般含有数千种化合物，而其中只有小部分具有生物活性。如何快速、准确地确定中药中与靶点特异性结合的成分，是中药研究亟待解决的关键问题。对中药组分的鉴定通常采用的方法是直接对中药粗提物进行HPLC检测，根据HPLC结果对主峰进行回收、鉴定，最后再对分离组分进行生物活性检测。这种检测方法是基于这样的假设：中草药中的有效成分在HPLC/MS中表现为独立的峰。然而事实上，很多情况下并非如此，因而这种检测方法很可能导致我们无法分离到真正发挥药效的关键组分。另外，由于这种方法在检测早期缺乏对生物活性的分析，导致在后期检测中发现很多组分并不具有我们希望的生物活性。因而，必须在中药筛选鉴定的早期引入活性检测。Biacore的检测信号源于活性分子间的相互结合，可以准确的分离、鉴定中药中的活性成分。其检测示意图如下：



Chen C et al., Chip-based drug screening for inhibiting α -glucosidase(2011). *Fitoterapia* 82(8): 1249-1257.

基于Biacore的中药组分鉴定主要包括以下几个步骤：（1）将药物靶点固定在传感芯片表面；（2）将中药粗提物直接流经芯片表面。通过Biacore检测中药组分与靶点的结合。其中，与靶点不结合或非特异性结合的组分会随流路带走，而与靶点特异性结合的组分则结合在芯片表面。这些特异性结合的组分极有可能是发挥生物活性的关键组分；（3）利用Biacore特有的样品回收功能，对结合在芯片表面的中药成分进行解离、回收；（4）对回收组分进行HPLC检测并鉴定活性成分。这种方法基于中药成分的生物活性进行分离，因而更加有效。

传统鉴定方法将中药粗提物直接进行HPLC检测，图谱复杂，所以通常只能关注一些明显的主峰。然而这些主峰有时候并非是中药发挥药效的组分。在基于Biacore的鉴定方法中，只有能与特定靶点结合的组分才能被回收，并进行后续的HPLC检测，因而极大地简化了HPLC结果，更有利于观察药物活性组分所对应的峰。药物有效成分结合在芯片表面的过程相当于在芯片表面进行了有效成分的富集，因而可用于检测微量的活性组分。下图中（a）表示中药鬼针草粗提物的HPLC检测结果；（b）表示经过Biacore结合、回收样品的HPLC检测结果。如果按照传统方法检测，很有可能会保留a图中不具有生物活性的主峰（major peaks），而与靶点真正发生特异性结合的活性成分由于在粗提物中含量很低，极有可能被忽略。而基于Biacore的鉴定方法则能够准确鉴定中药的有效成分。



US 20070009961 A1: Chen et al., Identification of targeting component of herbal medicines from simplified HPLC spectrum using after flowing through immobilized receptor (AFTIR) method (Jan 11, 2007).

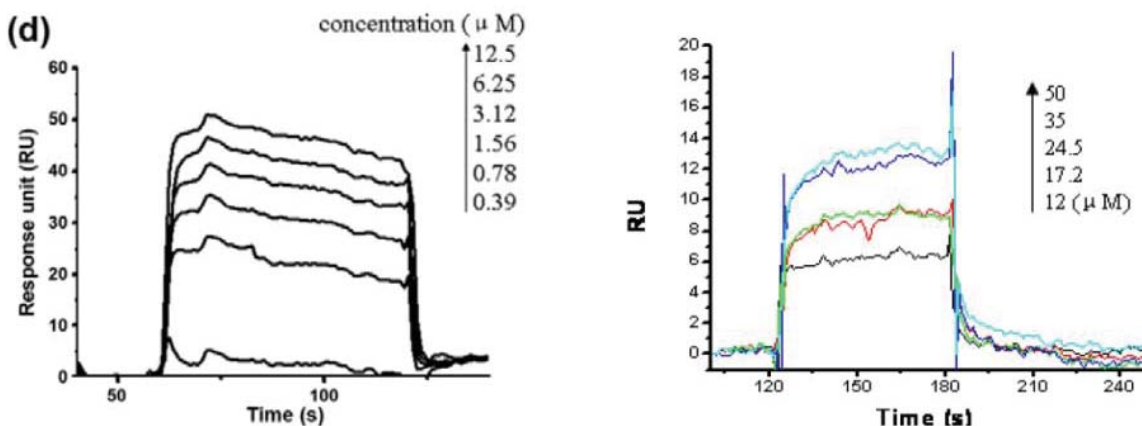
所用仪器请参照38-42页

八、如何进行中药成分作用机制的研究？

中药的活性成分作用机理的研究是制约中药现代化发展的瓶颈。Biacore 和ITC 作为有效的技术手段已经被广泛应用于候选药物的高通量筛选、药物靶点确认、药物结构优化以及早期药物毒理学研究中。该分析技术，提供生物分子间结合作用的定量研究，为研究者提供了一种有效的工具，提供分子间结合的高度精确且与生理学相关的数据。在高通量药物筛选中，通过活性数据处理过程确定化合物的药物活性，并为基于信息的药物发现过程准备准确、丰富的资料。

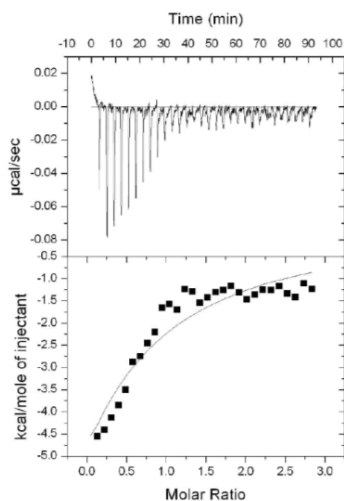
中药大黄具有潜在的抗糖尿病和抗癌作用，但是其具体机制尚不清楚。大黄酚是中药大黄中的一种主要成分，属于蒽醌类化合物。大黄酸是大黄酚的结构类似物。维甲酸X 受体(RXR)参与了众多生理过程，包括胚胎发育、器官生成、细胞增殖和分化，以及代谢平衡。研究发现，大黄酚是RXR α 的选择性拮抗剂，但二者相互作用的分子机制不明。通过Biacore和ITC 解析大黄中主要成分与RXR α 的结合，阐释了大黄的抗病机制。

利用Biacore 将纯化的RXR α LBD 蛋白固定在芯片表面，再依次流过不同浓度的大黄酚溶液，测得大黄酚与RXR α LBD 结合的平衡解离常数(KD)为6.2 μ M。大黄酸能浓度依赖性地与RXR α LBD 结合，证明大黄酸也是RXR α 配体。Biacore 检测结果如下图所示。



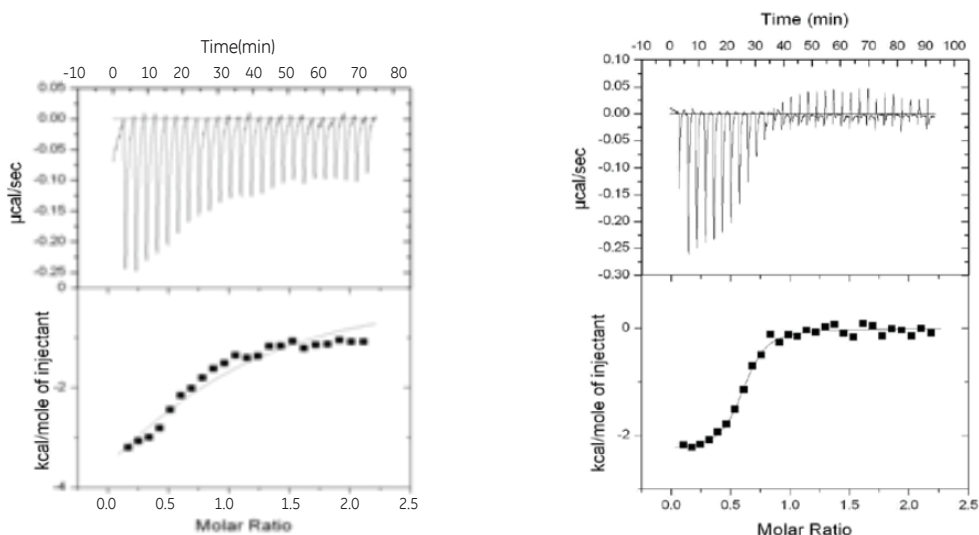
基于Biacore 的大黄酚（左）、大黄酸（右）与RXR α LBD 的结合实验

采用ITC 研究大黄酚与RXR α LBD 结合的热力学性质，结果如下图所示。大黄酚与RXR α LBD 结合的平衡解离常数KD 为7.5 μ M，这与Biacore测得的结果相吻合。同时测得大黄酚与RXR α LBD 结合的化学计量比为1:2。



基于ITC 的大黄酚与RXR α LBD 的结合实验

进一步采用ITC 研究抑制剂大黄酚对RXR α LBD 与共抑制小肽SMRT2相互作用的影响。结果表明，SMRT2 能与RXR α LBD-大黄酚结合。但是，通过比较SMRT2 与RXR α LBD 的结合（下左图）和SMRT2 与RXR α LBD-大35黄酚的结合（下右图），我们发现SMRT2 结合到RXR α LBD 的化学计量比发生了显著的变化。SMRT2 与RXR α LBD 是1:1 的等比例结合，而SMRT2与RXR α LBD-大黄酚的结合比例为1:2。这说明，大黄酚与RXR α LBD 的结合改变了SMRT2 与RXR α LBD 的结合方式。



共抑制小肽SMRT2 与RXR α LBD 的结合（左）和SMRT2 与大黄酚-RXR α LBD 混合物的结合（右）

技术综述

Biacore 系统的结合强度和动力学

Biacore 系统应用表面等离子体共振（SPR）技术实时监测分子间相互作用。无需标记，Biacore 提供关于亲和力、动力学和分子间相互作用特异性的信息。也可以测定生物分子的活性浓度。

相互作用的分子中的一种被固定在传感器表面上，而另一种分子以溶液形式流过传感器表面。通过接近传感器表面的质量浓度的变化实时地监测两个分子间的任何相互作用，并以传感图的形式提供结合数据，其中SPR 应答以共振单位（RU）形式对时间作图。

通过结合曲线形状显示的结合动力学（ k_a , k_d ）在相互作用过程中跟踪复合物的形成和解离。

更多信息请访问 www.gelifesciences.com/biacore

应答（RU）



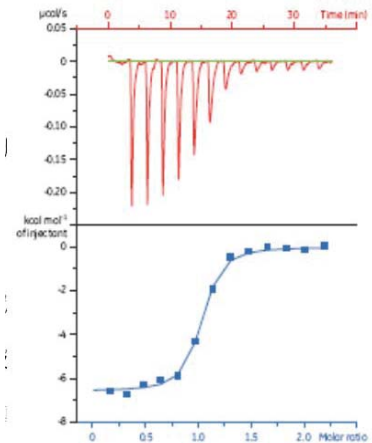
MicroCal ITC 系统的结合强度和生物能学

等温滴定量热法 (ITC) 在一个实验中无需标记就可以测定许多结合参数 (n 、 K_D 、 ΔH 和 ΔS)。

一个生物分子溶液用它的结合分子溶液进行的滴定，发生相互作用时释放的热量 (ΔH) 随着时间而被监测。每个峰代表与微量体积的样品注射相关的一次热量变化。随着连续量的样品被滴入 ITC 池中，吸收或释放的热量与结合量成正比。达到饱和时，热量信号减弱，直到只能观察到稀释热量为止。

根据池中热量对配体与结合伴侣的比例作图产生结合曲线，分析结合曲线以测定 K_D 、 n 和 ΔH 。

更多信息请访问 www.gelifesciences.com/biacore

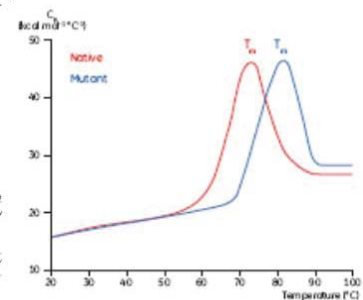


MicroCal DSC系统的蛋白质稳定性

等温滴在差示扫描量热法中 (DSC)，由于生物分子以恒定的速率被加热，可对天然状态下的蛋白质测定与热变性有关的热交换。

所测定的变性中点 (T_m) 可提供一种快速和方便的稳定性指示，这可以在生物治疗研发和制剂的整个过程中被使用。随着 T_m 的迁移观察热稳定性的增加或减少。更高的 T_m 值反映了更高的热稳定性，它与长期稳定性非常相关。

更多信息请访问 www.gelifesciences.com/biacore



所用仪器请参照38-42页

九、如何筛选单方或复方中药作用的潜在靶点，如何确定中药治疗疗效、优化中药药剂配伍？

荧光差异双向电泳技术在TCM中的应用

长期以来，中药被认为是从根本上治疗疾病、调理身体的良方，其优秀的疗效也逐渐被国际认同。中药的现代化研究也一直是中医药界多年以来广泛关注的焦点以及研究热点，但由于中药的来源具有多样性以及其临床应用形式多以复方为主，可能在体内与多位点发生相互作用而产生疗效，所以，中药的复杂性致使研究其药效物质基础和作用机制非常困难，成为了制约中药国际化的瓶颈。寻找有效的药物作用靶点对阐明中药作用环节，作用过程等机理具有重要意义，同时对新药开发也具有指导意义。

由于疾病的发生和药物治疗靶点大多数是在蛋白质（包括酶、受体及信号转导蛋白）水平，蛋白质组学具有高通量、系统性网络分析的特点，适用于研究药物的作用机制、寻找有效的药物靶点以及开发新药。

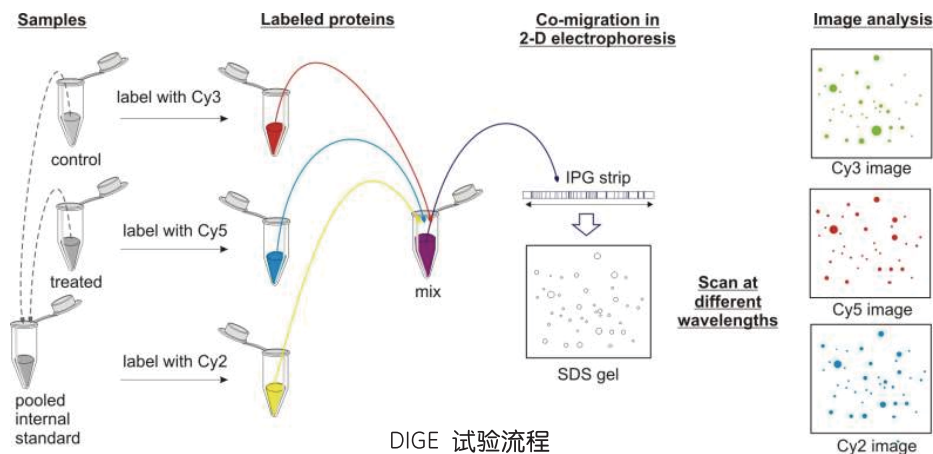
疾病状态在经过中药单体化合物、有效部位或复方提取物治疗前后，在蛋白质表达水平上会发生一定的变化，这些差异蛋白很可能是药物作用的关键位点或影响药物疗效重要因素，通过对这些差异蛋白的确认及功能分析，形成中药对疾病影响的网络结构，从中筛选中药作用的潜在靶点，同时可分析中药在体内作用的分子机制。进一步，可通过SPR/ITC 等技术，对药物与靶点结合的具体方式，结合行为等进行研究，从而阐释药物作用机理。

中药方剂进入机体发挥作用时，其中必然会引起包括从遗传信息到整体功能实现中的分子、细胞、器官、整体多个层面的结构与功能状态的改变，其药效最终作用结果是纠正机体蛋白质的非正常表达。中药方剂在药剂配伍及临床应用中灵活，单方和复方药剂对治疗的效果往往存在一定不同，通过蛋白质组学研究不同配伍药剂对疾病治疗后的影响，可以从分子水平上比较不同配伍药剂的作用效果，优化药剂配方。

蛋白质组因其数量庞大，约为100 万种，对其进行研究首先需要高通量的分离手段。双向电泳技术具有高分辨力、

质的等电点和分子量差异，应用第一向等点聚焦电泳（IEF）和第二向十二烷基磺酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS - PAGE）对蛋白质组进行纵横两次分离，最后，双向凝胶电泳的凝胶经过考马斯亮蓝染色或者硝酸银染色后，一般一张胶上可以出现数百至上千个蛋白质点，通过软件对蛋白质点的匹配对比分析，找到蛋白质表达水平发生变化的差异蛋白点，应用基质辅助激光解析/ 电离的飞行时间质谱(MALDI - TOF)对这些差异蛋白质点进行鉴定。

荧光差异双向电泳技术(简称DIGE)，是在传统双向电泳的基础上研发的用于蛋白质组研究的新专利技术。DIGE 技术最大的特点是在实验设计和结果分析中引入了内标，通过将不同蛋白质样品(包括目标蛋白质样品和对照蛋白质样品)标记上不同的荧光，将不同蛋白质样品在同一块电泳胶内分离，有效消除了胶与胶之间的差异，避免了不同凝胶在操作或分析过程中的人为性和偶然性误差，从而使获得的结果更为可信；并且减少了需要进行电泳的次数，缩短了实验需要花费的时间。



DIGE技术可检测到样品间小于10%的蛋白表达差异，统计学可信度达到95%以上。利用EtanDIGE 技术还可以对微量（少到5 μg）样本进行蛋白质组学分析，例如激光捕获显微切割（LCM）得到的样品或者很难获得的珍贵样品等。

肝纤维化是一种常见的慢性肝脏疾病的病理过程，并会导致肝硬化。扶正化癆方是用于治疗肝纤维化常用中药配方，能够通过抗炎，抗氧化应激，抑制肝星状细胞活化，减少胶原蛋白的合成等作用，保护肝功能，显著减轻动物模型中的肝纤维化。扶正化癆方由六味中药——丹参、虫草菌丝、桃仁、绞股蓝、五味子、松花粉组成。尽管对扶正化癆方的作用机制已经有了一定研究，但由于其成分复杂，在体内的具体分子作用机制尚未明确。

为了研究扶正化癆方在体内抗肝纤维化的作用靶点及分子机制，研究者采用了肝纤维化小鼠模型。正常小鼠（normal），肝纤维化小鼠（model），用扶正化癆方灌胃治疗的肝纤维化小鼠（FZHY），取三组小鼠的肝脏组织，进行双向电泳分离，用软件分析其蛋白质组表达差异。结果表明，在normal和model组中，有13个蛋白发生表达量变化差异，在model和FZHY组中，有10个蛋白发生表达量变化，其中有8个蛋白在三组中的表达量均有显著差异，这些蛋白与如物质代谢，蛋白结合，氧化应激，应激反应和细胞钙离子平衡相关，这些蛋白都可以作为扶正化癆方的潜在作用靶点，可进一步用SPR/ITC等方法进行进一步筛选和结合验证。

对这8个蛋白的表达量变化进行进一步观察，发现，扶正化癆方组对蛋白的表达具有回调作用，例如，蛋白Vimentin，纤维化组与正常组相比，蛋白表达量上升，而在经过扶正化癆方治疗后，蛋白表达量又回调至和正常组一致。由此表明，从蛋白表达水平上证明扶正化癆方对肝纤维化具有修复作用，同时，可将这些蛋白作为评价扶正化癆方药物作用效果的分子标志物。

丹参和三七及其复方药是临床常用的治疗心血管疾病的中药，为了探明丹参、三七及其复方药的作用靶点及分子机制，对比三种药物方剂的疗效，研究者采用了大鼠心肌缺血再灌注损伤模型，分别腹腔注射丹参、三七、和丹参三七复方药物处理，通过对各组动物心脏组织蛋白质表达图谱的比较，研究者发现18个蛋白的表达量发生了1.5倍以上的差异，这些蛋白与能量代谢、氨基酸和糖代谢、脂类代谢、肌肉收缩、细胞增殖和热休克应激相关。这18个蛋白很有可能是药物进入机体后作用的靶蛋白，可以进一步用SPR等方法对这些潜在靶蛋白进行筛选和结合的研究。

蛋白质组学的分析结果显示，如果对与缺血再灌注损伤最为相关的多个蛋白质在各处理组进行聚类分析，丹参、三七单用能够不同程度地调节缺血再灌注导致的异常蛋白质表达；与单方相比，丹参三七复方能够使异常的蛋白质表达谱回到最接近假手术对照组的水平。这些结果提示蛋白质表达谱的变化和药效是吻合的，蛋白质表达谱可以反映复方优于单方的特点。实验结果表明，可以应用荧光差异双向电泳方法对蛋白质组学进行研究，寻找中药作用的潜在靶点，评估多种方剂疗效，研究药物作用分子机制。

参考文献：

- 1.Hongdong Xie, Yanyan Tao, Jing Lv, et al. Proteomic Analysis of the Effect of Fuzheng Huayu Recipe on Fibrotic Liver in Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine,2013.
- 2.Qing-Xi Yue, Fu-Bo Xie, Xiao-Yi Song, et al. Proteomic studies on protective effects of salvianolic acids,notoginsenosides and combination of salvianolic acids and notoginsenosides against cardiac ischemic-reperfusion injury.Journal of Ethnopharmacology 141 (2012)659–667.

所用仪器请参照43-45页

十、中药毒理的细胞学研究I

常规细胞毒性检测：

传统毒性检测多采用动物模型,耗时长、成本高、且存在灵敏性低、假阳性率高等问题。发展新的体外实验方法,减少、优化和替代(即3R)动物实验成为大势所趋。国际科学界更是发出号召:毒性检测应减少动物实验,利用人来源的细胞、细胞系、细胞内组分等来观察物质对生物进程的影响。

大多数毒性物质通过破坏细胞的动态平衡而产生效应。细胞毒性这种测定细胞水平的效应被认为毒性物质引起细胞死亡能力的最初表现,可用于预测体内急性毒性、毒性机制,也可进一步帮助体外其他毒性检测方案和体内研究浓度的制定。细胞毒性检测通常采用细胞活力作为检测终点,目前已成为常见的毒性检测要求。作为中药研究院所和生产企业常规实验的一部分,如何简单、快速的获得稳定、可信的高质量毒性数据成为现阶段的要求。

传统采用细胞活力检测通常采用MTT比色法作为检测手段。黄色四唑MTT可被活细胞内的琥珀酸脱氢酶还原为不溶性蓝紫色结晶甲瓩。在一定条件下,琥珀酸脱氢酶可反应存活细胞数量。因此,通过对溶解的甲瓩进行吸光度测定,可以获得相对的细胞活力。虽然MTT方法被长期广泛的使用,方法本身容易出现误差大,对操作细节要求较高。并且MTT法只能用来检测细胞相对数和相对活力,不能测定细胞绝对数值。

Cytell全自动细胞成像分析仪将数字显微镜、图像式细胞分析仪和细胞计数器的功能集合为一体。这种结构紧凑的、基于应用的自动化细胞成像分析仪通过预设的自动化生物应用模块(BioApp)对细胞进行自动成像和处理,提供细胞和亚细胞结构图像的同时,分析获得强大的定量数据。每个BioApp是覆盖特定生物学应用或分析所有步骤的一个简单的、自动化的系统,简化常规细胞实验任务,轻松获得高质量的科学数据。一方面,Cytell可以作为数字显微镜使用,适配各种培养器皿:多孔板、玻片、培养皿和培养瓶。在细胞准备和药物处理过程中,Cytell可以检测细胞的生长状态(图1、图2)。

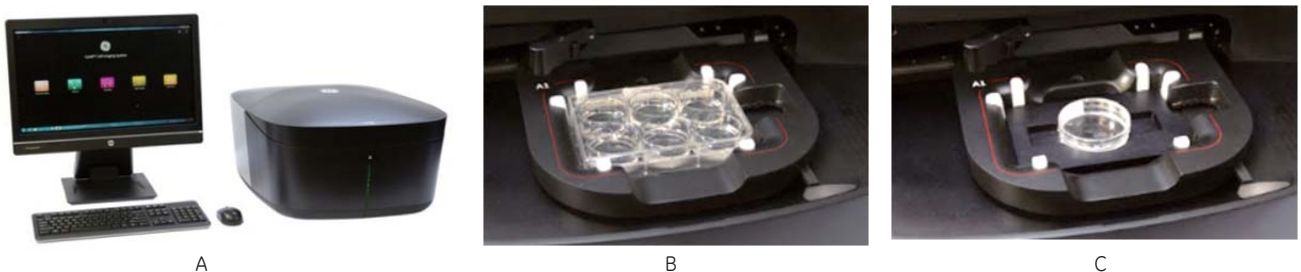


图 1. Cytell全自动细胞成像分析仪 (A)及它的广泛适配性。

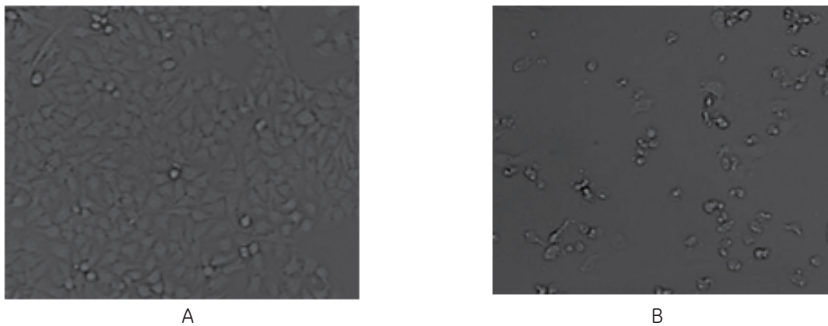


图 2. 高浓度阿霉素处理引起显著HeLa细胞死亡。(A)对照组.(B) 6µg/ml阿霉素组。

另一方面，Cytell可以用于常见细胞活力、细胞周期分析，或着成像用于更深入的样本分析。在细胞活力检测实验中，Cytell全自动细胞成像分析仪相比MTT法显示出强大的稳定性和灵敏性（图3、图4）。

阿霉素在这两种检测方法中都引起细胞死亡，并且这一作用呈剂量依赖关系。然而，在悬浮细胞体系（Ramos, 图3A）和贴壁细胞体系（Hela, 图3B）中，Cytell细胞成像分析仪都显示了很小的误差。这种极佳的稳定性也使得Cytell也比MTT法更为灵敏。在悬浮Ramos细胞实验中，使用Cytell系统，阿霉素在2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 就显示出显著的细胞毒性作用，而在MTT法中这个浓度为4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ （图3A）。这一灵敏性的差异在贴壁细胞实验中更为明显。在Hela细胞实验中，用MTT法阿霉素浓度需要加到12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 才显示细胞毒性作用，而采用Cytell体系则是3.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ （图3B）。

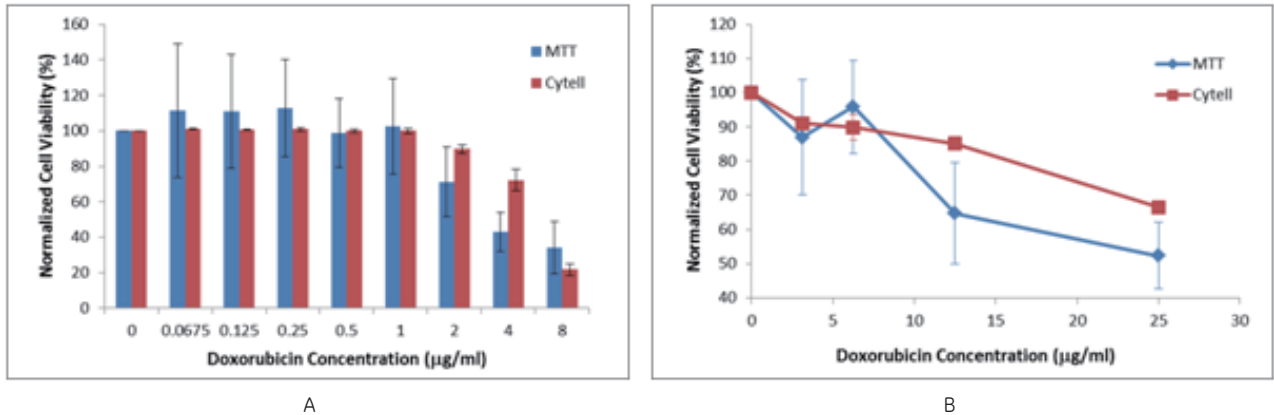


图 3. Cytell细胞活力检测比MTT方法更稳定及灵敏。(A)悬浮Ramos细胞实验 (B) 贴壁Hela细胞实验。A.B. 阿霉素倍数稀释浓度处理后，细胞活力定量数据。Mean \pm s.d三次重复。*: $p < 0.5$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$, t-test.

同样的，Cytell细胞活力检测与MTT这两种方法也用于检测DNA聚合物纳米材料对CCRF-CEM的细胞毒性作用。两种检测方法中，直到57nM浓度DNA聚合物材料都没有显示出显著细胞毒性作用。然而，MTT方法除了误差大外，还显示了波动性大的缺点（图4）。

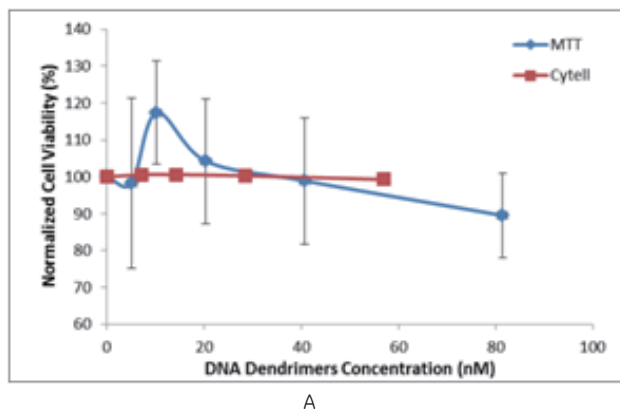


图 4. DNA聚合物纳米材料倍数稀释浓度处理后细胞活力定量数据。 Mean \pm s.d四次重复。

Cytell全自动细胞成像分析仪将数字显微镜、图像式细胞分析仪和细胞计数器的功能集合为一体，覆盖细胞培养到最终测试，是细胞毒性测试的一个方便工具。并且，与传统的MTT比色法相比，Cytell全自动细胞成像分析仪显示出强大的稳定性和高灵敏度。

此外，在常规细胞活力等检测之外，如需进行更深入研究，Cytell全自动细胞成像分析仪的自动成像BioApp可对细胞和亚细胞结构进行亚微米级的大视野成像，这些相片可以用于开放软件平台做更深入的定量研究分析，以下为一些实例分析（图5、图6）：

细胞器毒性分析:

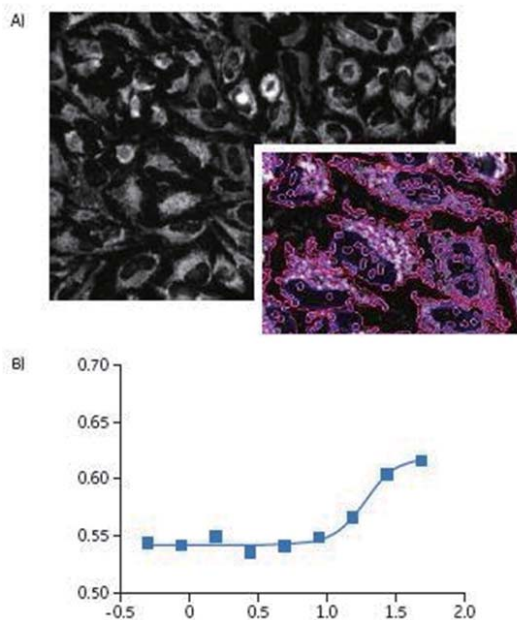


图5. (A) 使用IN Cell Investigator软件分析用Cytell自动成像BioApp捕获的线粒体结构。品红色轮廓显示对图像中线粒体圈定的结果；
(B) 对于来自96孔分析板的分析结果作图揭示了线粒体形状（形状系数）上的胺碘酮的剂量依赖性效应。误差线显示平均 ± SD, n=8复孔，每孔4张图像。

STAT3转录因子转位分析:

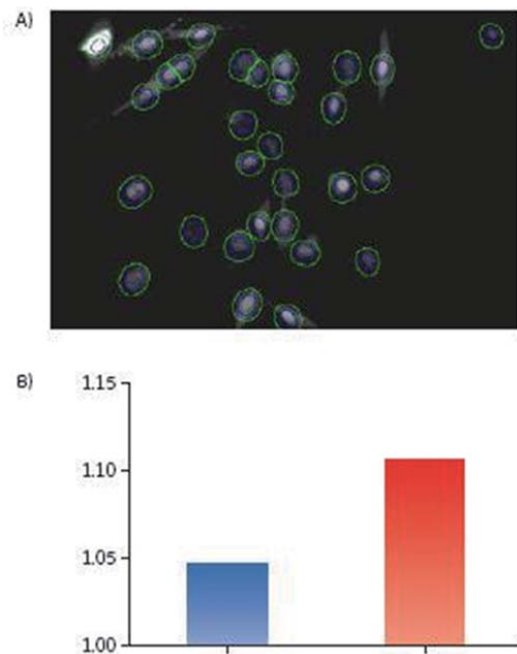


图6 A) 利用Cytell自动成像BioApp捕获的STAT3转录因子转位分析。绿色的轮廓显示导入CellProfiler开放源分析软件中的图像片段；
B) 来自96孔分析板的分析结果显示，一旦用细胞因子处理，GFP标记的转录因子的核转位增加。条形代表对于n=24复孔的平均核转位指数（细胞核对细胞质强度比率）。

十一、中药毒理的细胞学研究 II

进阶的多指标药理及毒性分析平台：

中药是由多种已知和未知成分组成，其疗效和毒性可能为不同化学成分所引起，中药复方中各化学成分之间的关系也极为复杂，并可因药材的质量、产地、采收时间、加工炮制方法、不同配伍而不同。因此中药毒性问题有其特殊性：不能以单味药有毒成分超标为标准；不同机体状态下，中药的毒性反应有所不同；纯化中药，药物有效成分含量高，毒性反应也增强；不同给药途径，中药的毒副作用也有所不同。基于此，中药的安全性评价需要用现代手段去综合分析和研究。中药药理研究的主要领域已由10年前重点研究心脑血管系统疾病、抗菌消炎、解热作用的药物转向补益药、心脑血管疾病、胃肠疾病、免疫性疾病和益智防衰的研究。以往对中药的研究主要以探讨药效学为主，目前已开始向作用机理、方剂组成、配伍规律等多方位发展，在药效的研究上，也由过去单一指标向多指标研究发展(1)。

近年来在中药药理研究中,新技术、新方法不断被采用。以往中药研究中,绝大部分以整体动物反应、最基本的药理实验方法和设备进行研究。近年来,虽然仍以整体动物试验为主,但计算机自动控制、图像分析处理和多媒体等多种现代最新方法和技术开始在中药药理研究中应用,中药体外实验方法学的兴起也已引起国内中药药理学界的注意和重视。此外还采用斑片钳、细胞内微电极和离子选择性微电极等技术来用以研究中药对动作电位、跨膜电位、离子通道、钙内流的作用。研究手段除利用整体反应、组织和细胞反应、生化测定外,一些先进的技术如细胞因子、神经递质等生物活性物质测定、离子通道、基因、受体功能分析等手段均已进入中药药理学领域。最近才发展起来的基因探针、细胞重组技术等分子生物学技术用于中药对基因表达与调控影响的研究亦已成为热点(1)。而高通量高内涵筛选分析技术的发展可望为生物活性物质测定以及新兴生物技术检测提供技术平台,为促进中药创新发展做出贡献。

高内涵筛选是指在保持细胞结构和功能完整性的前提下,同时检测被筛样品对细胞形态、生长、分化、迁移、凋亡、代谢途径及信号转导等各个环节的影响,在单一实验中获取大量相关信息以确定其生物活性和潜在毒性,获得被筛样品对细胞产生的多维立体和实时快速的生物效应信息。高内涵筛选和高通量筛选是有本质区别的。高通量筛选是以现代分子和细胞生物学为基础建立的快速、微量、定向的体外筛选模型和测试方法,以及结合自动化技术发展起来的高通量筛选技术在过去20余年中对创新药物的研究起到了不可替代的作用。虽然高通量药物筛选的结果较为准确,易于评价,但其检测模型均建立在单个药物作用靶分子的基础上,无法全面反映被筛样品的生物活性特征,如化合物对细胞产生的多种特异效应包括毒性作用。高内涵筛选通过同步应用报告基因、荧光标记、酶学反应和细胞可视化等常规检测技术,可以在新药研究的早期阶段获得活性化合物对细胞产生的多重效应的详细数据,包括细胞毒性、代谢调节和对其它靶点的非特异性作用等,使发现先导天然产物的速率有了显著的提高。高内涵筛选不仅能阐明被筛样品与药靶的相互作用关系,而且可同时了解细胞的其他生物学改变,进而研究其对相关代谢途径的影响,并通过观察细胞形态来预测化合物的毒性。应用高内涵筛选技术能够加速发现具有潜在开发前景的活性化合物,设定深入评价的优先次序,为构效关系研究和结构优化改造提供有力的支持。因此,高内涵筛选代表着创新药物研究技术发展的必然趋势。高内涵筛选技术的广泛应用,有可能明确地揭示中药的作用机理,从而进一步提高中药新药的研发速度。

图像采集、图像分析和数据储存是高内涵药物筛选设备的主要组成部分。其中用于图像分析的应用软件大致可以分为两种：一种是针对某类特定生物学反应而设计的专用分析模块，研究人员能够在一定程度上通过修改参数来适应检测精度的需要，如质膜转运（Plasma Membrane Trafficking），细胞核位移（Nuclear Trafficking），神经突生长（Neurite Outgrowth），受体颗粒形成（Granularity）目标蛋白强度（Object Intensity），细胞周期（Cell Cycle），细胞双重区域融合分析（Dual Area Object），细胞形态学（Morphology），细胞微核体分析（Micronuclei），细胞内多重目标分析（Multi Target Analysis）；另一种为使用者可以根据实验和检测要求自己来设计软件（客户自定义软件），如GE公司的Developer Toolbox，是目前全球唯一一个可以允许用户根据自己细胞系的特点自行创建分析方法，并对细胞图像进行更深层次的区域划分和定义，获得真正量身定做的分析结果的软件，并在2006年获得美国《Scientific Computing》杂志授予的“年度最佳生物图像分析软件奖”。实施高内涵分析在单位时间里会产生和采集数以万计的图像，必须及时处理和妥善保存。一个完整的高内涵筛选技术系统应该包括具有一定开放性的数据存储器，对不同来源的实验数据进行统一的分析和处理，同时允许研究人员调取信息，分析研究。

高内涵药物筛选的应用几乎涵盖细胞分析的所有方面，如GFP-标签受体内源，TransfluoR，CypHer5E 标记配体内源化，钙离子通道，受体介导PLC 转位，染色质压缩，细胞扩增（BrdU 掺入），核计数，细胞计数，细胞凋亡 CytC 释放，细胞凋亡，膜联蛋白V 结合，线粒体整合，GFP 转位（即转译因子活化），磷脂因子（PH & FYVE）功能区，细胞存活信号

Study category	Assays	常规 细胞 毒性	肝 毒性	心 毒性	神经 毒性	遗传 毒性	模式 生物 毒性
General markers for toxicity	Cell count	•	•	•	•		•
	Membrane integrity (e.g., calcein AM / propidium iodide)	•	•	•	•		•
	Live / dead scoring	•	•	•	•		•
Cell cycle disruption	DNA content (ploidy) / mitotic markers (e.g., phosphohistone H3)	•	•	•	•		•
Morphology	Cell size and shape / nuclear and cell blebbing / necrosis	•	•	•	•		•
Apoptosis	Caspase activity, annexin V binding	•	•	•	•		•
Cytoskeleton integrity	Actin / tubulin content	•	•	•	•		
Mitochondrial integrity	Mitochondrial mass and distribution / oxidative stress	•	•	•	•		
Organelle content	Peroxisome / lysosome mass and distribution	•	•	•			
Lipid content	Phospholipidosis and neutral lipid accumulation		•				
DNA replication	Micronuclei (mono or binucleated assay)	•					•
	Spindle breaks	•					•
DNA strand breakage	DNA strand breakage (H2AX, COMET)	•					•
Neuronal cells	Neurite length and number				•		•
	Synapse markers (e.g., synaptophysin)				•		
Neuronal development	Neurite length and number				•		•
	Synapse markers (e.g., synaptophysin)				•		
Gene reporter assays	e.g., p53 induction	•		•		•	•

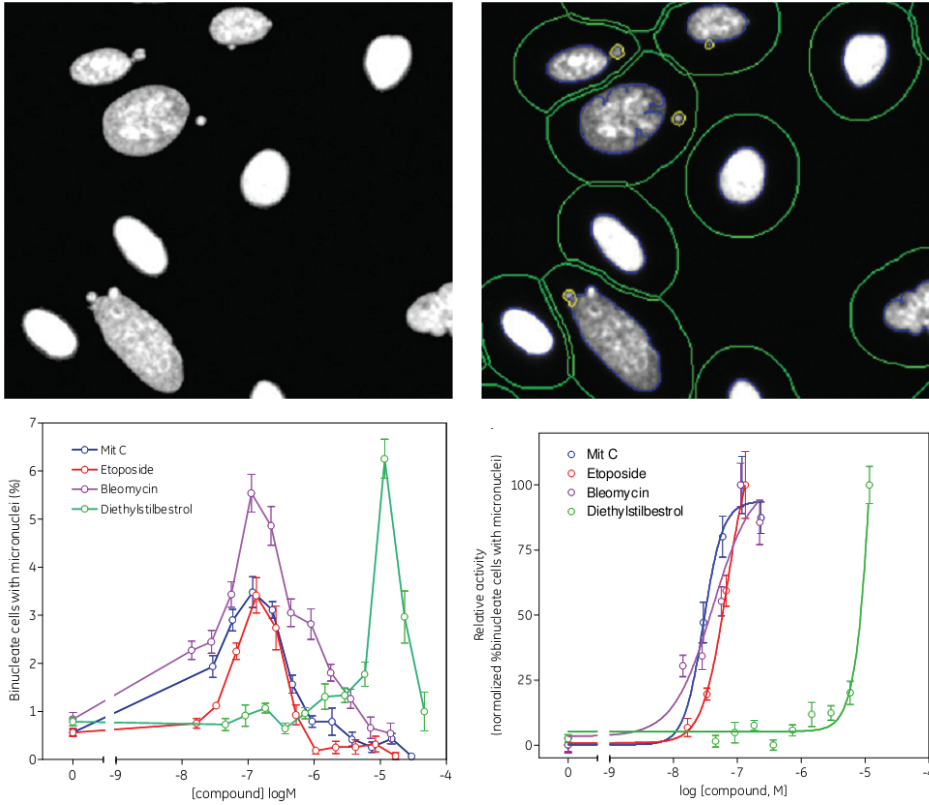
Table 1: the broad range of assays that benefit from using HCA

(AKT1),细胞转移信号 (Rac1),报告基因表达G2M 细胞周期标签,Cell 扩增 (BrdU 掺入),G1S1 检测,多重细胞周期分析 核-质转位,内质网转换,质膜转位,膜褶皱, Golgi 体压缩,线粒体转位。另外,当前已经在高内涵平台上实现高通量化的细胞毒性检测方法主要有: 1) 微核分析; 2) 神经细胞生长分析; 3) 多参数细胞凋亡分析; 4) 细胞形态分析; 5) 心脏毒性分析; 6) 肝毒性分析; 7) 细胞周期分析; 8) 彗星分析; 9) 高尔基复合体断裂分析; 10) 多参数神经细胞核突触囊泡分析。

以下是IN CELL 在细胞毒性和药物毒理安全性的一些分析实例:

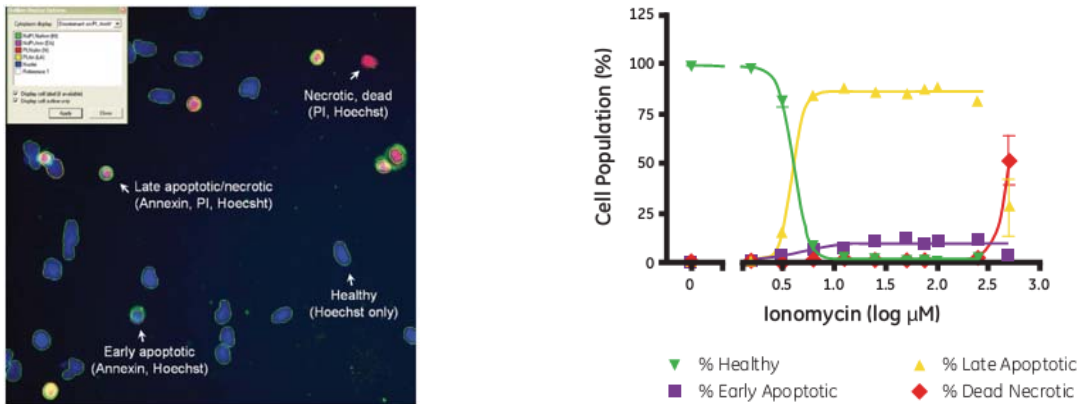
微核分析

微核是真核类生物细胞中的一种异常结构，是染色体畸变在间期细胞中的一种表现形式，往往是各种理化因子，如辐射、化学药剂对分裂细胞作用而产生的。微核分析用于辐射损伤、辐射防护、化学诱变剂、新药试验、食品添加剂的安全评价，以及染色体遗传疾病和癌症前期诊断等各个方面。



图：Etoposide 等药物处理细胞后微核形成及图像分析处理。细胞核：蓝色边线；微核检测范围：绿色边线；维核：黄色边线。

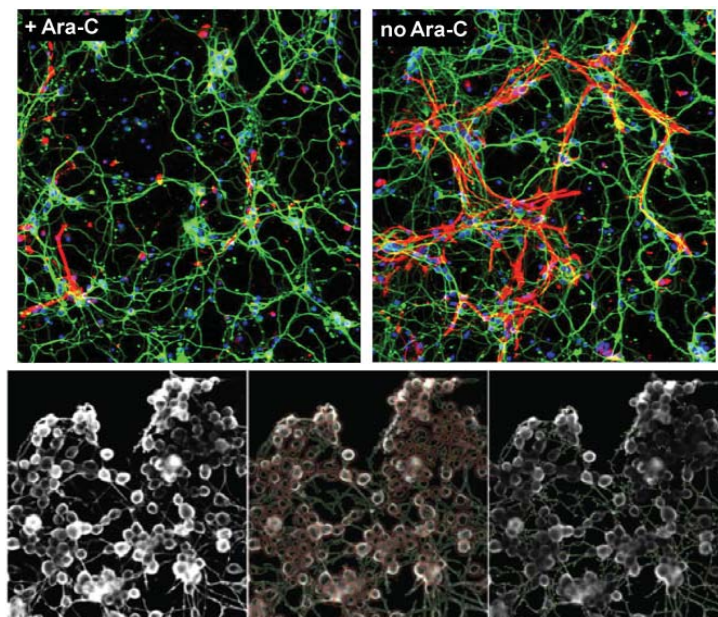
细胞凋亡分析



健康细胞：Hoechst 早期凋亡细胞：Hoechst Annexin 晚期凋亡细胞：Hoechst, Annexin, PI 坏死，死细胞：Hoechst, PI

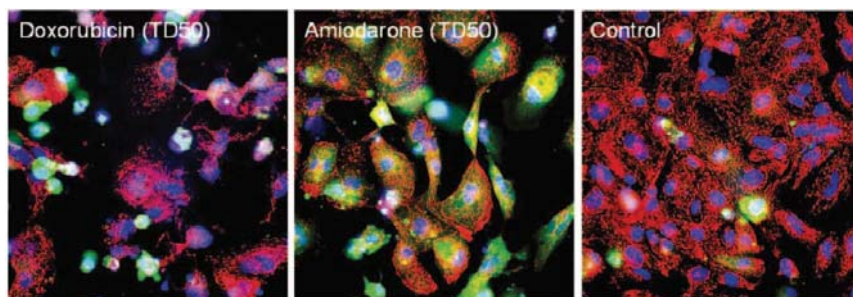
神经毒性检测

瑞士Norvatis研究中心的Marjo Götte 在96、384孔板中培养大鼠原代小脑颗粒神经元，通过检测神经突的长度、区域，用对化合物的神经毒性进行初筛。GE IN Cell 高内涵成像系统配有神经生长模块，轻松建立神经毒性检测模型。

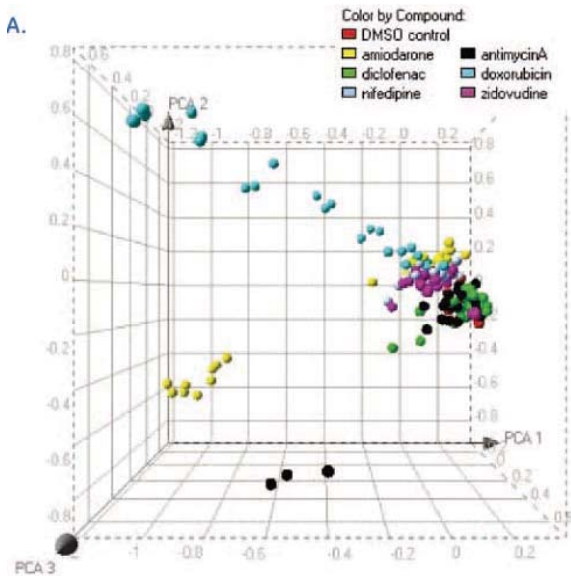


心脏毒性检测

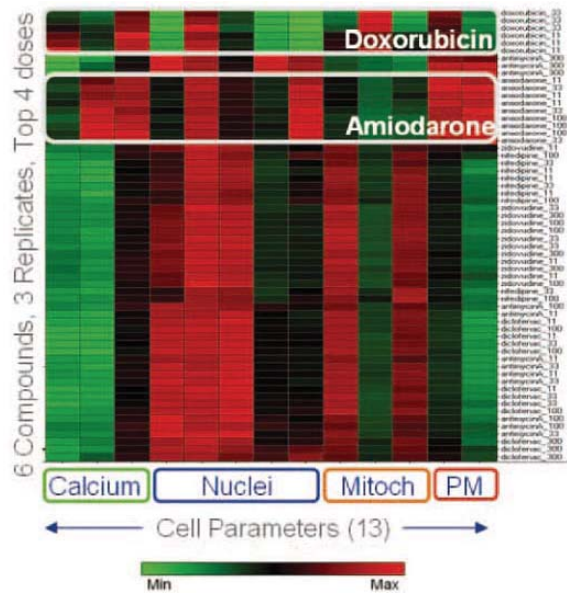
近年来一些药品因为心脏毒副作用而撤市，造成重大经济损失。为了进行药物的体外心脏毒性检测，越来越需要生物相关性更好更容易制备的细胞模型，GE Healthcare 的人胚胎干细胞源心肌细胞可以满足这种需求。GE Healthcare 心肌细胞具有生物相关性和生理相关性，工业级数量，适合于药物研发和毒性检测。该细胞是由具有正常核型的人胚胎干细胞分化而来，用电生理实验、流式细胞实验和亚细胞成像实验进行了性质鉴定。冷冻保存细胞复苏后，心肌细胞形成能收缩的单细胞层，表达心脏相关转录因子、结构蛋白和具有功能的离子通道。心脏毒素可以在很多方面影响细胞的行为和表型，包括干扰线粒体呼吸作用，破坏质膜的完整性，引起细胞死亡。高内涵技术可以在单细胞水平同时监测多种毒性指标，灵敏全面地捕捉可能由药物毒性引起的细胞形态的微小变化，这些变化很难用电生理或其他传统体外实验方法检测。



图：多因素细胞毒性分析中细胞形态截然不同。GE Healthcare 心肌细胞分别用阿霉素、胺碘酮或仅DMSO 处理24小时，加入混合荧光探针染色：TMRM，线粒体状态，红色；Fluo-4 AM，钙离子浓度，绿色；Hoechst33342,DNA /核状态，蓝色;TOTO-3，细胞活性，未显示。活细胞图像由IN Cell Analyzer 2000 拍摄。



图：PCA分析揭示化合物作用总趋势的不同



图：分级聚类分析

上述例子说明细胞成像不但可以确定化合物的潜在心脏毒副作用，还可以根据毒性反应的不同区分这些化合物，根据反应相似性将它们分类。四色HCA毒性分析实验捕捉了大量的单个细胞数据并同时测量四种细胞学参数，质膜完整性、钙离子活动、核表型和线粒体状态，图2所示的传统剂量效应曲线并没有充分利用收集到的所有信息，化合物作用的细微差别很难用图2中的四个细胞学参数来加以区分。根据多参数表型（54种细胞学参数）标识对毒性化合物加以区分和归类，使用多种IN CellInvestigator软件相关联的模式识别工具，进行分级聚类分析，简化复杂的多参数HCA数据分析，揭示化合物作用总的趋势和不同之处，如图3所示。GE Healthcare心肌细胞HCA分析为筛选新化合物潜在心脏毒副作用，更早地了解它们的毒性机理提供了一种灵敏有效的方法。

高内涵分析可以把药物毒性研究中往往有多个毒效指标，如生化指标、形态指标、定性指标、定量指标等，将多个指标用多变量方法进行统计分析，用数量化理论综合评价药物的毒性，最终达到评价中药对各脏器损害及其程度的目的。

Reference

1. 中药基础性研究的现状、发展趋势与对策、建议。中医药科研（99年第4期）仪器
2. An imaging assay to analyze primary neurons for cellular neurotoxicity Journal of Neuroscience Methods 192 (2010) 7-16

所用仪器请参照43-45页

十二、如何选择为中药企业QC实验室选择高效率和高质量的设备和耗材？

近年来，随着中药质量标准的科学性和中药质量的可控化，中药的质量检验标准有很大提高。选择合适的实验设备和耗材对于药品质控的数据可控性和稳定性是其重要的一环，GE Whatman是实验室高端分离产品的开发和 innovator，一直专注于实验室样品过滤和制备技术创新。在中药企业QC实验室比较关注的检测指标中，针对比较重要的微生物限度测定、含量测定和不溶性颗粒物检测等指标，我们提供更快捷、更高效和更易用的设备和耗材，帮您实现数据稳定和高效率的QC实验室。

1) 如何提高药品的微生物限度测定的效率？

《中国药典》规定微生物限度是中药提取物及辅料的必检项目；对于只有原则性要求的制剂（如：丸剂、口服片剂、胶囊剂、颗粒剂），应对被微生物污染的风险进行评估；含动物类原药材粉的口服中药制剂要求不得检出沙门菌（动物类原药材粉是指除蜂蜜、王浆、动物角、阿胶外的所有动物类原药材粉，如牡蛎、珍珠等贝类，海蜇、冬虫夏草、人工牛黄等。）现有几种方法中，薄膜过滤法是测定微生物限度中细菌回收率较高的一种方法，常用药品中细菌数、霉菌数、酵母菌数及控制菌检查，另外原料药、原料水等也需测定微生物限度，从而实现全面控制中药质量的目的。

常规膜过滤系统测定微生物限度时往往导致系列问题，其中每一步过滤操作中对漏斗和基座清洗和灭菌（高温高压或火焰枪），微孔滤膜也需要灭菌，而单独灭菌包装型滤膜需要手撕包装袋，当样本量较大的情况下清洗漏斗、清洗底座、火焰喷射、手撕滤膜、等待冷却等极其繁琐和耗时，效率低下，而火焰枪灭菌、乙醇溶液浸泡或无菌水处理难以避免交叉感染，火焰枪还存在一定的安全隐患，对操作员要求非常高。



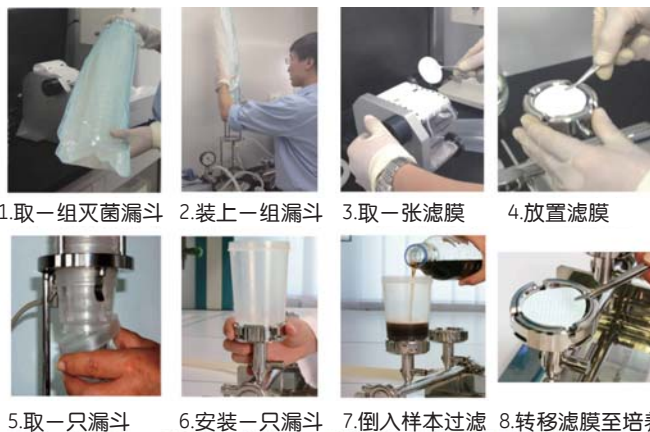
图1 传统方法需用火焰枪对漏斗和基座灭菌，需等待冷却，清洗步骤繁琐，可靠性差

GE医疗生命科学部Whatman MBS1膜过滤系统正好解决了上述的难题。该系统包含一个真空抽滤装置、取膜器、可灭菌漏斗、漏斗分配器、隔膜真空泵、泵保护滤器、灭菌袋、连续灭菌滤膜（0.2um, 0.45um,）等全系统产品，不仅满足常规大量中药样本检测需求，还支持微生物快速计数方法开发，微生物快速计数，被誉为“交钥匙服务”的膜过滤系统。



图2 GE医疗生命科学部Whatman MBS1微生物过滤系统，采用独特设计，可连续操作更多中药样本

Whatman MBS1微生物过滤系统操作示例



第三方实验室数据也显示，使用MBS I微生物过滤系统可实现方便、快速和安全的微生物限度检测。

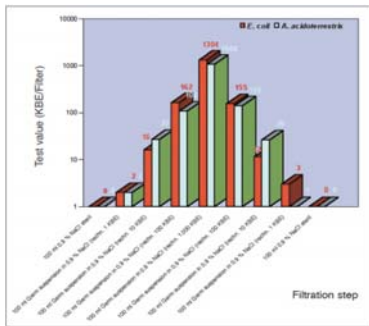


图3 不同细菌浓度样本对照实验
*大肠杆菌和嗜酸耐热菌

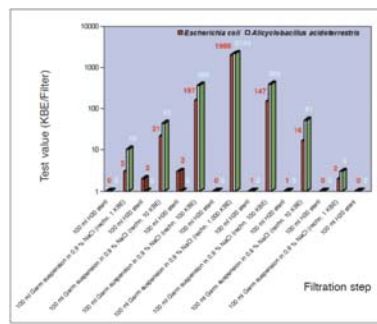


图4 样本之间无菌水过滤后实验对照

Whatman MBS1微生物过滤系统，运用创新组系统概念设计，可实现连续样本间，过滤底座和漏斗不灭菌。操作效率大幅提高，时间节省50%以上。取膜器、漏斗器和特制漏斗将交叉污染降至最小漏斗可重复利用，降低实验成本。Whatman MBS1目前成为制药企业和药品监管单位首选的膜过滤系统之一。同时GE Whatman还提供专门为微生物限度测定而研制混合纤维素膜，其机械强度高，抗断裂；细菌回收率>85-90%，可靠性好不含任何抑菌剂。简单方便，兼容各类取膜器，过滤通量大，流速快。提供白色、黑色、绿色三种颜色，滤膜孔径有0.2, 0.45, 0.6, 0.8, 1.2, 3.0um可选



图5混合纤维素膜

2) 如何对中药中不溶微颗粒物进行测定?

2010年版《中国药典》附录IX R规定了静脉注射剂（溶液型注射液、注射用无菌粉末、注射用浓溶液）以及供静脉注射无菌原料药中不溶性微粒的大小及数量，当光阻法测定结果不符合规定或供试品不适于用光阻法测定时，应采用显微计数法进行测定，并以显微镜计数法的测定结果作为判定依据。

常用直径25mm或13mm Whatman混合纤维素滤膜白色0.45um（带格栅）用于显微镜计数法截留注药样本中的不溶性微粒，其中25ml静脉用注射液或注射用浓溶液用直接为25mm的微孔滤膜，而小于25ml的溶液用13mm的微孔滤膜，微粒检查用水及试剂则先经过Whatman径迹蚀刻膜（0.2-1um）滤过，以确保试剂中无不容微粒。另外层净化台采用高效空气过滤器（HEPA-VENT或HEPA-CAP）过滤空气，定期检查空气中的微粒数。

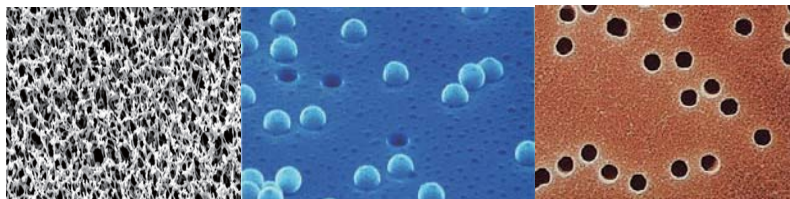


图6 混合纤维素膜、径迹蚀刻膜显微镜照

3) 如何进行快速样品制备，用于中药含量测定?

含量测定是检测中药质量的一种重要方法，我国药典自1990年版开始，首次引用现代仪器检测方法测量含量，比如高效液相HPLC、离子色谱GC 和薄层色谱TLCS等。

建立稳定和重现性好的HPLC，离子色谱GC的系统和方法，样品制备方法也至关重要。GE Whatman可以提供多样化的产品，为样品制备过程提供高效稳定的支持。

1) 新颖高效的HPLC样品制备

除了常规的针头式滤器过滤制备的样品，您还有全新概念和高效过滤的过滤方式。

Whatman非针头式滤器是一种预装好的过滤装置，用于滤除样品中的微粒。它们取代了针筒和滤器的组合装置，只需一个单独的、一次性的滤器。使用Whatman创新的非针头式滤器能令您的样品准备更简易、更快速、更有效。Whatman Mini-UniPrep非针式滤器为HPLC和UHPLC分析样品前处理提供了快速简便的去颗粒的解决方案。事实上，与其他样品前处理方法相比，Mini-UniPrep处理样品的时间仅为原来的1/3。算上样品制备过程中节约的时间成本和大量日常消耗品的成本，

Whatman Mini-UniPrep非针式滤器将为您的实验提供更多更有效的便捷。可直接装入自动进样器，兼容任何适应12 mm x 32 mm 标准外形小瓶的任何自动进样器。

有两种型式可供使用：带小玻璃瓶的 Mini-UniPrep G2 和塑料瓶的 Mini-UniPrep。

Whatman非针头式滤器操作简单，只需三步轻松完成样品制备（图7）：



图7 非针头式滤器操作步骤



Mini-UniPrep



Mini-UniPrep G2

- 1.将待过滤样品加入小瓶中
- 2.将滤器安装进入小瓶，按压
- 3.按压完成后装载进入自动进样器

2) 常规样品制备

如果您还是倾向于常规样品制备方式，GE Whatman也可以为您提供更多常规滤器的选择。

Puradisc™针头式滤器具有一流的质量，是最经济的选择之一。它可以快速有效的过滤样品，最大过滤量为100 ml。

Puradisc滤器由无色聚丙烯或聚碳酸酯材料制成，有标准进口和出口接头，多种材质滤膜。有无菌包装可选，还有特殊管出口可用于高精度度样品分离回收入微型管，避免了空气阻塞作用。

SPARTAN®-HPLC认证针头式滤器是经过HPLC认证的针头式滤器。经SPARTAN™针头式滤器过滤的有机相和水相溶液确保在HPLC中结果的重现性。

经SPARTAN过滤的水、甲醇和乙腈溶液在210和254 nm波长下检测几乎无紫外吸收，检测并认证不同批次之间有很高的一致性。SPARTAN含有由再生纤维素制成的亲水、低蛋白吸附膜，拥有卓越的化学抗性，抗大多数水溶液和有机HPLC溶剂。经检测认证，经SPARTAN过滤的水、甲醇和乙腈溶液在210和254 nm波长下检测几乎无紫外吸收（如下图所示），同时有极低的死体积<10 μl。

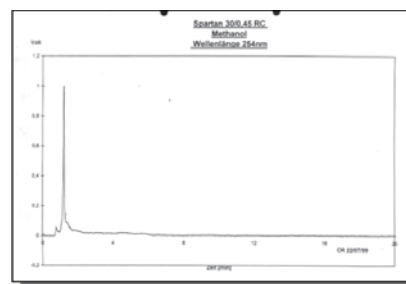


图8 SPARTAN过滤的甲醇在210和254 nm波长下检测几乎无紫外吸收

3) 中药重金属的含量测定的新选择

为了加强中药材的安全性，新版药典规定了多种药材中重金属的含量，如西洋参、白芍、甘草、丹参、金银花、黄芪等药材，药典规定含重金属铅不得过百万分之五；镉不得过千万分之三；砷不得过百万分之二；汞不得过千万分之二；铜不得过百万分之二十。

Whatman GD/XP一次性针头式滤器适合于过滤要求无机离子分析的样品，因为离子提取水平减到非常低的程度；HPLC样品制备、痕量金属分析、溶解的重金属分析前的样品准备，它是一个很好的选择。GD/XP针头式滤器有2层由20 μm和5 μm聚丙烯组成的预滤层。最后一层膜可供选择，位于预滤层下面。



图9 GD/XP

中药制药创制系统解决方案

仪器技术篇



经济实用, 性能优良的膜过滤系统VERSA flux

VERSA flux 是GEHC 最新推出的一款新产品, 具有以下特点: 具有操作简单, 体积处理范围广泛, 既可用于实验室的工艺开发, 又可用于小规模制备, 兼顾了工艺开发和小量制备的特点, 无需采购两台设备, 就可实现工艺的放大, (最小可以接3MA(110cm³)中空纤维柱。

最大可以接9 系列 (3.25m²) 的中空纤维柱)VERSA flux 是一款易于使用的手动台式切向流过滤系统, 非常适合用于工艺开发及小规模生物制药生产。作为一种经久耐用的高质量系统, VERSAflux 为与GEHealthcare 中空纤维滤柱配套而被精心优化。

本系统适合用于微滤应用, 如细胞收获及澄清, 也适合用于蛋白质浓缩及纯化。该先进系统可以通过配置一个选配的手动盒式过滤器支架与膜包兼容, 进行超滤及洗滤的操作。



VERSAflux 过滤系统的优点

- 高效性
- 使用方便
- 稳定的设计确保可靠操作
- 投资回报 (ROI) 增加

有效性

VERSAflux 过滤系统是专为满足现实工艺开发要求而设计, 由一个四活塞隔膜泵组成, 该泵可提供连续、均匀的液体流。本系统还优化了流路, 确保较小的死体积。VERSAflux 使用硅胶软管和聚丙烯管, 可耐受高达3bar 的压力, 并允许用户对中空纤维滤筒进行内部完整性测试。

此外, GE Healthcare 中空纤维滤柱可在各种切向流应用中提供稳定的加工工艺。这有助于确保长时间生产工艺的一致性。

使用方便

VERSAflux 系统包含了直观显示器和触摸屏界面, 为用户监测工艺参数及控制泵速提供了一种简易方式。此外, 本系统紧凑的台面面积使它可方便携带。

稳定的设计确保可靠操作VERSAflux 由优质组件所构成, 这有助于确保操作中的可靠性和生产力。

稳定的设计

使得本系统可用于各种操作条件，与传统的手动切向流过滤系统相比还减少了设备开支。VERSAflux 还考虑了总体安全性特征，如整合了二级报警监测器一级用于发出警告信息，另一级用于发出立即中止过滤过程的临界报警。

本系统的工业设计包含了用于处理紧急事件的急停开关、指示器、及复位（软件）键，因此本系统体现了 GE Healthcare 坚持质量第一的承诺。

质量及监管考虑

与所有GE Healthcare 设备一样，VERSAflux（台式）系统是专为满足质量最高期望而设计的。本系统中所使用的液体接触材料符合美国食品药品监督管理局（FDA）联邦法规第21章第177部分指南的规定。

- 基础文档资料：包括产品规范、组装图纸、一般规格、材料清单（设备清单）、管道仪表图、备件清单、用户手册、及合格证书。购买本系统时，这些文件均为标配。
- 高级文档资料：包括输入/输出清单、线路互连图、电气示意图、接线表、电缆接线图、功能测试记录、校准证明、可编程器件配置记录、材料证书、以及安装测试记录。这些文件需单独付费购买。

验证文档资料如安装确认和运行确认（IQ/OQ）文件以及安装后在现场对系统进行实地确认的服务可另行订购。这些服务有助于满足监管机构所提出的日益严苛的要求，监管机构通常希望制药厂商在将设备投产前进行验证。

针对天然药物研究开发既可以分析也可以制备快速，方便地进行无人看守的自动化提取制备

ÅKTA pure是一套适合用于天然药物研究和开发的快速纯化液相层析色谱系统。和传统HPLC 不一样的是，ÅKTA pure兼具分析和制备功能，可以准确收集图谱上的每一个峰作下一步研究。



高度兼容性

系统采用标准的HPLC 连接设计，可兼容出争相层析外的所有HPLC 柱，系统备有各类反相，疏水层析，离子交换，凝胶过滤，亲和层析和高速逆流色谱可供选择

多种增强自动化的选配模块

ÅKTA pure 可以选配有两种不同类型的入口阀，可以进行缓冲液和洗脱溶液的选择。多个入口的阀门确保清洗缓冲液随时在线，方便地定期清洗层析柱和系统。柱位阀可以被连接到系统并被用于控制层析柱流向。ÅKTA pure 可以选配两个柱位阀中的一个，最多可以同时连接5 根层析柱，用于自动层析柱的切换。多根层析柱的连接可以最大限度减少人员之间的差异，并进一步减少气泡进入层析柱中的风险。

简单快捷，直观性强

ÄKTA pure 由 Unicorn 控制，已被全球 20000 多台 ÄKTA 证明不需要专门的色谱系统知识。通过简单、直观和灵活的预编程方法模板编程，简单的拖拽相应的 phase，程序就可以运行，可简化您的工作。

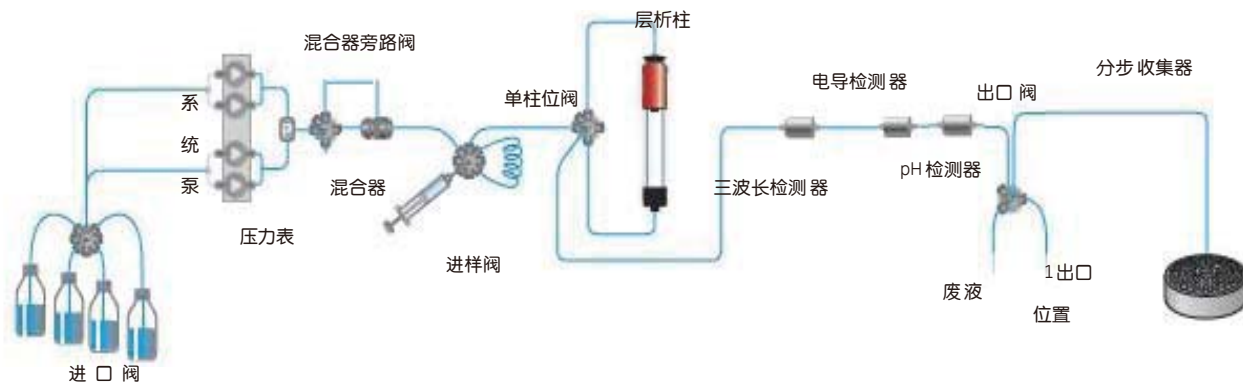
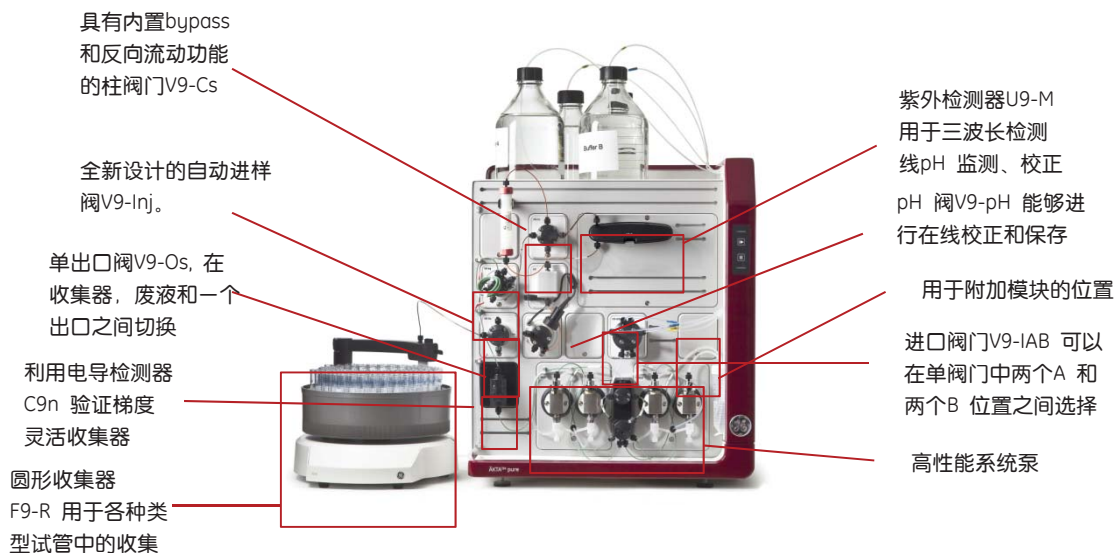
高载量、高分辨率的获得有效成分

可纯化出几百毫克有活性的天然药物，取决于所用凝胶，层析柱大小和系统配置。独有的恒压调速和自动压力补充等先进功能的系统泵提供可靠稳定的流速和梯度。pH 和电导检测器使操作人员充分掌握梯度形成的在线情况，可快速开发出具有高分辨率的纯化制备工艺。

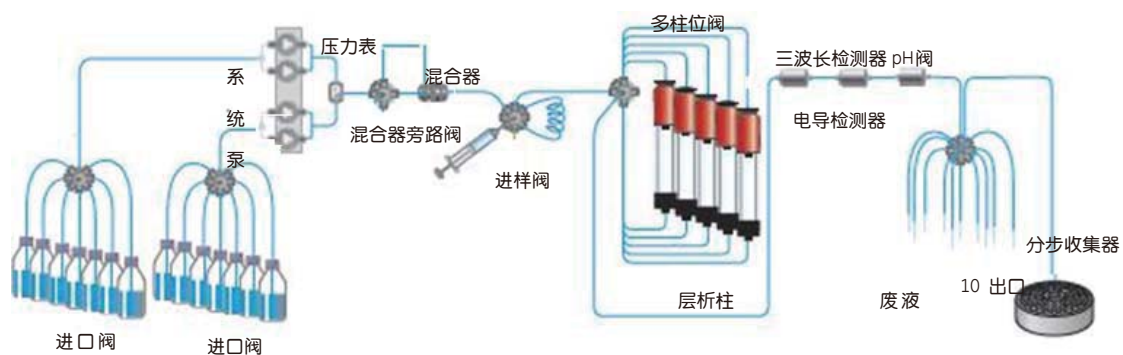
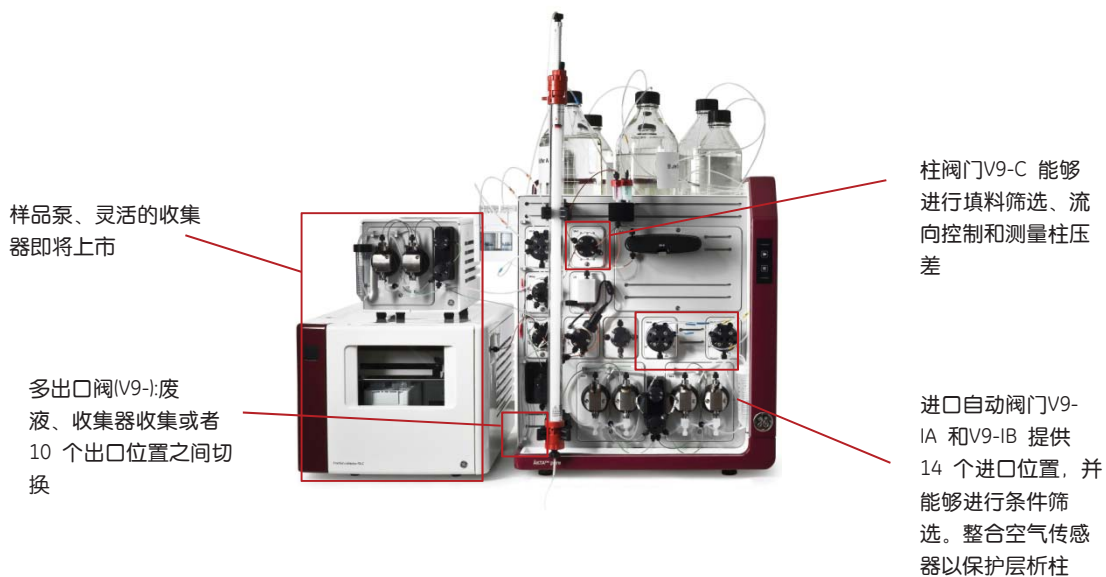
高灵活性

ÄKTA pure 是多重选择的模块化系统，可以灵活的应用在天然产物有效成分的纯化中。客户可以选择各类阀门、气泡感应器，上样泵，收集器，并且一台机器最多可以两个 UV 紫外检测器和两个收集器，使得多步纯化或用于使用不同大小的流动池以同时检测低浓度和高浓度有效成分成为可能。I/O - box E9 提供了一种连接外部接口设备的方法，例如检测器。I/O - box E9 需要整合到系统的外部设备接收模拟或数字的信号，或者传输模拟或数字的信号到外部设备。客户可以根据研究需求，定制的系统，并且可随着您的研究需要的发展轻松的升级。

ÄKTA™ pure Ability 方便易用纯化液相色谱系统



轻松升级成ÄKTA™ pure Automation 高效自动纯化液相色谱系统



半自动层析系统 VERSAprocess

VERSAprocess 半自动层析系统，吸收了 ÄKTAprocess 的一些重要特征，并与手动操作相结合，使用简化 Unicorn 5.3 控制软件，为您提供一个经济实惠，易于操作的半自动层析系统，可用于疫苗、血液制品、生化药、抗生素及天然产物的大规模生产，具有宽广的流速范围（流速范围有两种选择：8-180L/h 和 30-600L/h）。

为什么 GE Healthcare LifeSciences 要推出 VERSAprocess 半自动层析系统？由于 SFDA 的对 GMP 车间认证法规要求越来越严格，原来的手动系统由于操作不严格，数据记录不科学，文件管理不规范已很难满足 GMP 的认证要求，VERSAprocess 半自动层析系统可以提供 GMP 验证所需的文件系统。VERSAprocess 与过去的手动层析系统相比，具有以下优点：

- 整体化设计，集成各种检测器
- 简化的 Unicorn 软件监控平台，减少了人为干预造成的影响
- 满足 GMP 要求的法规文件的要求



随着 GMP 要求的不断提升，传统的手动层析系统已经无法满足生产的要求

整体化设计

VERSAprocess 系统将常规层析过程所需的泵、管路、阀门、紫外检测器等有机的结合在一起，省去了手动系统安装的麻烦，具有固定的管路系统，保证了工艺的稳定性和重复性，同时客户还可以根据自己的需求，选配气泡检测器、电导检测器、流量计及另外增加的进/出口等配件。

简化 Unicorn 软件控制平台

VERSAprocess 系统采用简化的 Unicorn 简化软件平台，可通过软件控制泵的流速，全自动峰收集，并且进行数据的记录，还可进行简单的结果处理，如峰的积分等。减少了人为因素造成的影响。

满足 GMP 要求的文件系统

VERSAprocess 系统提供简单的 IQ/OQ 服务；系统材质符合 CFR 177 及 USP VI；提供各个部件的校准证书，功能测试记录；客户也可根据需要购买系统的材质证明文件。

系统的典型应用

- 疫苗领域
- 血液制品领域
- 生化药领域
- 抗生素领域
- 天然产物领域

高效、可靠、稳定的工业层析柱VERSACHROM

VERSACHROM 是一款高效、可靠、稳定的BioProcess 层析柱，具有操作简单和易于维护的特点。层析柱独特的设计可帮助使用者获得可靠的结果，并兼顾广泛的应用范围。所有设计和配件都符合法规的要求，基于大家所熟知并被无数次证明的BPG 层析柱平台，VERSACHROM 可以整合柱高调节器操作单元，大大地减少了装柱和卸柱的繁琐操作。其精湛的设计、合理的构造保证了结果的可靠性，同时仍能保持极高的柱效。VERSACHROM 为用户提供了性能与质量的出色结合。

VERSACHROM 层析柱的优点：

- 已被证明的层析性能
- 减少了装柱和卸柱的繁琐操作，从而获得了最大正常运行时间
- 稳定的配置保证了可靠的结果
- 端对端应用支持与服务



已被证明的层析性能

VERSACHROM 层析柱整合了已被证明的分布系统，该系统可对样本进行有效分布，从而获得可与已确立的BPG 层析柱相提并论的重现性层析性能。减少了装柱和卸柱的繁琐操作，从而获得了最大正常运行时间。高质量的 VERSACHROM BioProcess 层析柱无需进行复杂组装或繁重手动升降操作的优化设计，减少了装柱操作所需的工作量和工具使用，同时也减少了生产时间表中的非生产性加工工艺时间，从而促进了产品或工艺的快速转换。

稳定的配置保证了可靠的结果

VERSACHROM 由优质组件所构成，这些组件均为精心挑选，有助于确保层析性能的一致性。除了层析柱材料外，其稳定的设计和优化分布系统均有助于获得可预测的和可靠的纯化结果。各个 VERSACHROM 层析柱均是在严格的质量控制指导下进行测试，以确保其符合关键性能规格。每个层析柱均会随附功能测试记录和合格证书。

Microcal 产品介绍



等温滴定量热仪

1. iTC200 等温滴定量热仪

仅需200 μl 样品即可获得完美数据MicroCal iTC200 系统是目前最为灵敏的等温滴定量热仪。产品是针对当今生命科学工作者的需求专业设计，特别适合药物研发领域的应用。相对于前代产品，iTC200 大幅降低了测量池的体积(200 μl)以及样品消耗量，明显加快了实验进程。它使用简便，无需专业热力学人员操控，所有的功能均通过软件控制，帮助用户进行快速精确的分析。

MicroCal™ iTC200 技术指标

所需样品体积	280 μL
平衡时间从 25°C ~5°C	< 6 min
响应时间	10 s*
通量	8-12 per 8 h day
注射器容积	40 μL
测量池材质	Hastelloy
测量池形状	Coin-shaped
测量池容积	200 μL
噪音	0.2 ncal/s ¹
温度范围	2°C to 80°C
温度稳定性	$\pm 0.00015^\circ\text{C}$ at 25°C
多种反馈模式	Yes (passive, high gain, low gain)
可升级至自动配置	Yes
重量	9.4 kg
尺寸 (W × H × D)	21.0 × 33.7 × 34.9 cm



2. Auto - iTC200 等温滴定量热仪

这是一台带有全自动进样装置的等温滴定量热仪，该装置配备有4个96孔板，其核心测量单元仍为有效容量为200ul 的ITC200的等温量热仪等可以极大地提高实验的通量，实现384 个样品的无人值守运行。

MicroCal™ Auto-iTC200 技术指标:

所需样品体积	370 μ L
平衡时间从 25°C ~ 5°C	< 6 min
响应时间	10 s*
通量	Up to 75 per 24 h (SIM)
注射器容积	40 μ L
测量池材质	Hastelloy
测量池形状	Coin-shaped
测量池容积	200 μ L
噪音	0.2 ncal/s ¹
温度范围	2°C to 80°C
温度稳定性	\pm 0.00015°C at 25°C
多种反馈模式	Yes (passive, high gain, low gain)
重量	90.7 kg
尺寸 (W × H × D)	62.5 × 76.8 × 57.2 cm



3. VP - ITC 等温滴定量热仪

VP - ITC 的测量池的有效容量为1400ul, 拥有较稳定的基线性能，是目前世界上拥有量最多的等温滴定量热仪。

MicroCal™ VP-ITC 技术指标:

操作温度范围	2°C到 80°C
响应时间	20 秒
测量池设计	硬币形状，在位固定，不可移动，非反应性
测量池容积	1400 μ l
测量池材质	哈氏合金
进样注射器容积	300 μ l
样品处理量	每天 8 小时 4-8 个样品
重量	11.5 kg
尺寸 (W × H × D)	20.3 × 43.8 × 36.5 cm



微量热差示扫描量热仪 (DSC)

1. VP - DSC 差示扫描量热仪

MicroCal VP-DSC 是目前最为灵敏的差示扫描量热仪，使用简便，适于研究溶液中的样品。它可被应用于检测光谱生物分子的内部结构稳定性，包括蛋白质、核酸、脂类和表面活性剂胶束等。VP-DSC可以精确的快速测定热转换中值 (T_m)，同时也提供其他相关的热力学参数，使用户深入洞察影响样品构造和稳定性的各种因素。其他应用包括：检测蛋白的折叠和稳定性、抗体结构域测定、膜和脂类物质的鉴定以及测量过于紧密的分子相互作用。

MicroCal™ VP-DSC 技术规格：

操作温度范围	-10°C到 130°C
响应时间	7 秒
测量池设计	硬币形状
测量池容积	500 µl
测量池材料	钽
样品处理量	每天 8 小时 2-5 个样品
重量	8.2 kg
尺寸 (W×H×D)	20 × 44 × 19 cm



2. VP-Capillary DSC (Auto & Manual) 差示扫描量热仪

VP-毛细管差示扫描量热仪系统具有一个容积为130µl 毛细管测量池，完全一体化的自动进样器（配备有6个96孔板）能够每天处理多达50份样品。所有的填充、进样和各室清洁功能实现了全自动化无人操作。对于那些更高通量和无人看管操作以及无需处理样品的应用而言，也可选择不带自动进样器的人工毛细管差示扫描量热仪。

主要特点和优点：

- 经业内证实的表明稳定性的方法
- 对溶解状态中的生物分子稳定性作直接测量
- 极低的含量测定下限值
- 凭自动操作可每天筛析多达50件样品

MicroCal™ VP - Capillary DSC 技术规格

测量池容积	130 µl
所需样品体积	370 µl
典型样品浓度	0.1~2 mg/ml
响应时间	5s
短期噪音	0.05µcal/°C ¹
基线可重复性	1.5 µcal/°C ²
多种反馈模式	是 (Passive, High gain, low gain)
测量池设计	钽, 毛细管状, 固定式
实验温度范围	-10°C to 130°C ³
最快扫描速率	240°C /h
实验通量	多至 50 个样品 /24h
样品量	6 个 96 孔板
自增压系统	0~45 psi
自动升级	是
量热仪重量	8.2 kg
自动进样器重量	10 kg
量热仪尺寸规格	43 × 16.5 × 20 cm
自动进样器尺寸	82.8 × 38.5 × 64.8 cm



Biacore 产品介绍

Biacore 提供了实时观察分子间相互作用的技术。通过它您能观察两种分子结合的特异性，能知道两种分子的结合有多强，分子间识别的快慢和形成复合物的稳定性，还能了解生物分子的结合过程共有多少个协同者和参与者。Biacore 可以让您得到用其他技术方法难以得到的结果，因为它可以实时反应分子结合过程中每一秒变化的情况，并且在分析过程中无需借助探针等标记物，确保了分子的天然状态和活性。因此，Biacore 广泛应用于各类生物体系的测定，从各类小分子化合物、多肽、蛋白质、寡核苷酸和寡聚糖直至脂质分子、噬菌体、病毒和细菌。在超过20 年的时间里，Biacore 系统为科学家提供了独到的洞察力来揭示生物分子的相互作用，发表文献超过10000篇

Biacore T200

硬件

- 出色的灵敏度，较市场上同类产品高30~50 倍，对直接检测的有机分子没有分子量限制
- 全自动4 通道溶液传送系统实现微升、微克级样品用量
- 缓冲液自动切换阀，方便进行不同条件下的功能分析
- 缓冲液在线自动脱气，节省实验准备的时间
- 4-45°C 样品温控系统
- 兼容384 孔板、96 孔板、1.5ml Eppendorf 管等多种容器
- 连续分析384 个样品，无人值守
- 软件符合21CFR Part 11 规范设计，可选配GLP/GMP/GCP 支持

软件

- 支持热力学分析模式（稳态及过渡态）
- 独特的单循环动力学分析模式
- 经典的多循环动力学分析模式
- 全自动溶剂校正功能（小分子研究）
- 全自动的浓度分析

功能

- 全新的无需标准曲线的浓度分析模式
- 抗原表位分析功能
- 内置免疫原性分析模块
- 基于向导的分析方法开发模式
- 内置图形化高级编程控制模式
- 人性化的数据质量评价模块



Biacore 3000

- 迄今为止全球装机量和文献量最多的Biacore 经典机型
- 手动、向导、自定义多种仪器控制模式
- 样品回收功能让您发现互作的功能因子，兼容MALDI-TOF 以及LC-MS质谱分析模式
- 4-40°C高精度分析温控
- 连续分析192 个样品，每个芯片可重复使用至少100 次
- 软件符合21CFR Part 11 规范设计，可选配GLP/GMP/GCP 支持



Biacore X100

- 替代和验证传统互作分析方法的生物物理技术
- 无缝支持Biacore 芯片及试剂盒，让您快速开展功能研究；
- 多循环动力学模式
- 研究对象的分子量可低至100 道尔顿
- 数据评价模块让你自信发表实验结果
- Biacore X100 扩展包为您提供更多扩展功能：单循环动力学、浓度分析、溶剂校正等



Biacore 4000

- 60小时无人值守的操作，可平行分析多达16 个靶标的测试。
- 高通量、全自动分析，在24 小时内可进行多达4800 个样品的扫描。
- 与LIMS 数据分析的无缝集成，可以很方便地实现数据的导入和导出功能。
- Biacore4000 系统的硬件和软件提供了创新的解决方案，最大限度地提高生产力的关键领域，如抗体的选择，生物治疗和小分子药物发现（LMW）。

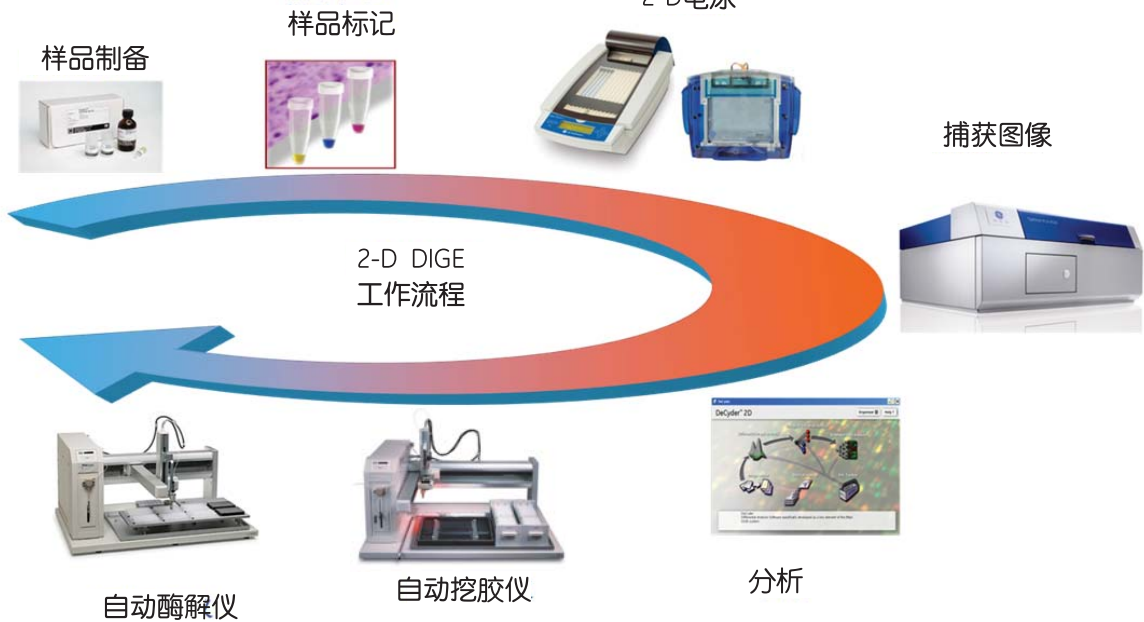


全套蛋白质组学解决流程

原理和应用：

Ettan DIGE 荧光差异蛋白表达分析系统在传统双向电泳技术的基础上，结合了多重荧光分析的方法，在同一块胶上共同分离多个分别由不同荧光标记的样品，并第一次引入了内标的概念，极大的提高了结果的准确性，可靠性和重复性。在DIGE 技术中，每个蛋白点都有它自己的内标，并且软件全自动根据每个蛋白点的内标对其表达量进行校准，保证所检测到的蛋白丰度变化是真实的。DIGE 技术可检测到样品间小于10%的蛋白表达差异，统计学可信度达到95%以上。

DIGE 技术流程主要包括蛋白标记、双向电泳分离、捕获图像、结果分析、斑点切取及酶解五个步骤。



样品标记

CyDye DIGE 荧光标记物

专门为Ettan DIGE 系统设计的荧光标记物。这些荧光标记物是分子量和电荷匹配的，具有信号强，光谱分开，吸收和发射峰窄等特点。这些特点使不同的Cydye 标记的样品可以在同一块胶上共分离，保证了所有样品在完全相同的第一向和第二向电泳条件下分离，消除实验的偏差并保证精确的胶内匹配。

CyDye DIGE 最小标记法荧光标记物标记蛋白质中的赖氨酸，仅需50 μ g 蛋白样品。

CyDye DIGE 饱和标记法荧光标记物标记半胱氨酸，仅需5 μ g 样品，推荐用于稀少样品的标记，如从激光捕获显微切割下来的样品。



2 - D 电泳

Ettan IPGphor 3 等电聚焦仪是专为双向电泳第一向而设计的有效、方便的解决方案。该仪器可快速提供准确可信的高重复性实验结果，适合高载量和高通量样品的分离。

- 适合一个 Ettan IPGphor Manifold 多功能配件盘或用于7, 11,13, 18, 或 24-cm IPG 干胶条的 1-12 根标准型胶条槽；
- 内置电源和固态半导体温控系统 (15~31°C)，程序控制电压、温度和时间；外接电脑控制软件最多可同时控制4 台 Ettan IPGphor 3 等电聚焦仪，每台机器可分别执行不同的运行参数，并实时监控电压、电流等变化；输出打印报告，并可通过网络远程监控仪器；
- Manifold 多功能配件盘和标准型胶条槽均采用氧化铝陶瓷质地，高效散热，避免出现热点；
- 胶条槽表面有疏水涂层，有效防止蛋白黏附到胶条槽内壁上，避免样品交叉污染。



Ettan DALT 二向垂直电泳系统

Ettan DALT six 系统与Ettan DALT 预制胶结合，使用最大尺寸的凝胶，可确保高分辨率，且不损失重复性。Ettan DALT six 与电源和循环水浴配合，可同时运行6 块24cm 的凝胶。内置缓冲液循环泵和陶瓷热量交换器，控温精确，缓冲液用量仅需5.5 升（其他厂家需高达~12 升），节约试剂成本。在同一个腔内灌6块胶，各胶之间高度一致、实验可重复性好。



图像采集

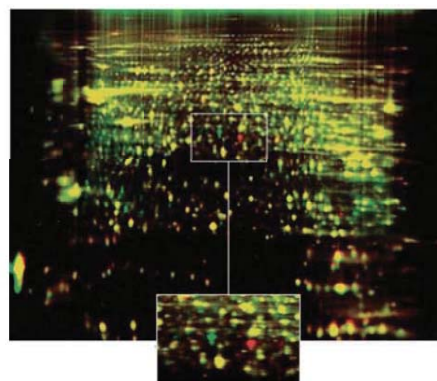
Typhoon FLA 9500 多功能激光成像仪

Typhoon FLA 9500 是一款新型多功能激光分子成像仪，是多用途用户的理想选择。Typhoon FLA 9500 可以满足多种生物分子成像需求，包括：蛋白印迹定量检测，多重荧光(可见光区和近红外激发)、2-D DIGE、同位素标记检测、以及传统染色(如考染和银染胶)成像等应用。

多功能 可进行多重荧光、化学荧光、放射性同位素标记样品和传统染色(如考染和银染)样品成像。

高通量 成像面积可达40 × 46 cm，可同时对20 块大小为10 × 8cm 的凝胶或蛋白转印膜进行成像，样品间可比性高，减少工作量和等待时间。兼容2-D DIGE 可同时对两个 2-D DIGE 电泳凝胶进行成像

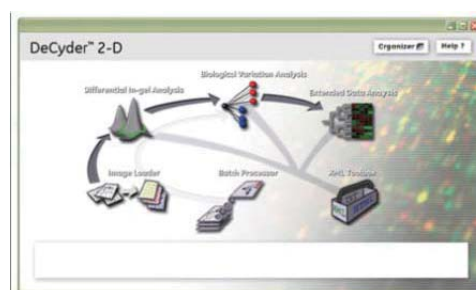
高分辨率 像素分辨率高达10μm，线性动态范围超过5 个数量级，可提供对凝胶、印迹、组织样品和多孔板分析的准确定量。



分析

DeCyder 2-D 差异分析软件

DeCyder 2-D 软件是专门为多种荧光预标记，带有内标的DIGE实验而设计的软件。它能全自动对一块胶内的多个样品进整个过程在一个批处理的模块中全自动实现，消除使用者之间的误差，并对差异进行自动的统计学分析，确保得到统计学可信的结果，将整个过程的手动分析时间减少至数分钟。DeCyder 2-D 软件是一个完全自动化的软件，不需要任何手动编辑,保证结果的客观性；它为DIGE应用专门开发，建立在Oracle的数据库软件之上，加强了数据和用户的管理；同时DeCyder 2-D 软件还具有兼容的控制数据分析模块(EDA)，方便对数据进行进一步的统计学计算和分析，如聚类分析、模式分析、判别分析等多变量分析。



斑点切取及酶解

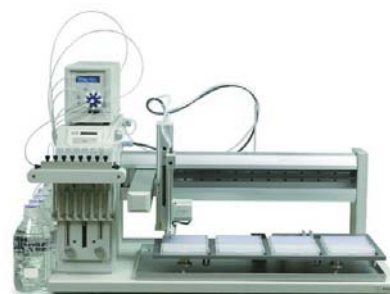
Ettan Spot Picker 全自动斑点切取系统

Ettan Spot Picker 全自动地从染色或已脱色的胶上切取所选蛋白质斑点，准确率大于99.9%，快速高效。切取一个斑点仅需不到10s，并直接将其放入对应的96孔板中，一次性可切取384个蛋白斑点。



Ettan Digester 自动蛋白酶解系统

Ettan Digester 可直接根据Ettan Spot Picker的输出文件进行操作，提供多种优化好的方法自动完成蛋白酶切，一次能处理384个样品，并使酶切后的肽片段能直接用于进一步的分析如蛋白质的识别。



Ettan DIGE 能够发现样品间小至10%的差异，同时保证统计学可信度达95%以上是当前蛋白质组学研究中可信度和准确率最高的技术之一，是已经经过验证并且被许多著名的蛋白质组学研究部门肯定的技术。

Cytell全自动细胞成像分析仪

Cytell全自动细胞成像分析仪将数字显微镜、图像式细胞分析仪和细胞计数器的功能集合为一体。这种结构紧凑的、基于应用的自动化细胞成像分析仪通过预设的自动化生物应用模块（BioApp）对细胞进行自动成像和处理，提供细胞和亚细胞结构图像的同时，分析获得强大的定量数据。每个BioApp是覆盖特定生物学应用或分析所有步骤的一个简单的、自动化的系统，简化常规细胞实验任务，轻松获得高质量的科学数据。



主要特点：

1.简单—无需成像经验

Cytell全自动细胞成像分析仪预设易于使用的、自动化的BioApps模块，覆盖从成像到分析、数据可视化和报告生成的特定生物学应用或分析的所有步骤。这些预设BioApps模块简化和自动化您的常规细胞分析任务，同时也提供灵活性以设计您自己的独特步骤满足、您的需求。

BioApps兼容多种容器，包括载玻片、培养瓶、培养皿和多孔板（6-384孔）

2.灵活—一机多用，随您所需

Cytell可完成细胞成像、细胞计数和细胞分析等多种功能。

细胞成像仪：Cytell提供的成像多达四个荧光通道和明视野模式，能成像多孔板，载玻片、培养皿和培养瓶中的细胞。两个精心挑选的物镜连同高品质CCD摄像头能够成像不同类型的生物。Cytell提供清晰锐利的细胞和亚细胞成像，具有亚微米分辨率和大视野，可以很容易找到感兴趣的特征。

细胞计数器：Cytell可自动计数在一次性血球计数板中的细胞。这个系统提供快速的细胞活力评估和方便的工具用于细胞体积和细胞密度的计算。

细胞分析仪：Cytell提供先进的细胞定量工具用于测量荧光和细胞形态。单个细胞可以被测量和用于亚群分析。数据可视化工具如直方图、散点图和板热量图允许从多个不同的角度审视细胞群数据。

3.功能强大—支持更深入的研究探索

Cytell全自动细胞分析仪可以让新手和经验丰富的显微镜工作人员更深入的了解他们的样品。Cytell的精致和紧凑的设计包含强大的成像功能，具有14位动态范围高灵敏度，具有大视野捕获细胞群、克隆和小的有机体，可以获得亚微米分辨率的细胞和亚细胞结构的多通道图像采集，并以开放的平台支持未来研究的需要。

IN CELL2200



IN Cell Analyzer 2200 高内涵系统模块化设计，对固定细胞和活细胞快速全自动成像，非常灵活，适用于各种细胞分析方法，各种实验和各种样品，并且符合FDA 21CFR Part 11 的有关规定。INCell 2200 是经典高内涵机型IN Cell 2000 的升级版，采用新一代科研sCMOS 相机和七色新型固态荧光光源InsightSSI，和2000相比成像速度更快，灵敏度更高。

主要特点：

一. 高速高质量成像：

IN Cell Analyzer 2200 可以在2.5 分钟之内完成96 孔板整板双色荧光的扫描；在20 分钟之内完成1536 孔板整板单色荧光的扫描。IN Cell Analyzer 2200能够高速成像是因为：

1. 明亮的固态光源：和显微镜以液体光导纤维相连，明亮、高效、均匀、稳定，弱光成像更好，显著缩短曝光时间；
2. 科研级 sCMOS 相机，灵敏度更高，帧速更快，即使样品荧光很弱也能得到很好的图像；成像视野大，一个视野就有可能捕捉到足够的细胞用于统计学分析，节省很多时间；
3. 在线细胞计数功能：微孔板各个孔中细胞的生长状态可能会不同，在线细胞计数针对不同的孔自动调整拍摄视野数量，整体缩短实验时间；
4. 自动聚焦：是提高成像速度的关键，IN Cell 2200 提供基于激光的硬件自动聚焦和基于图像对比度的软件自动聚焦，二者可结合使用。
5. 高效优化的载物台和操控软件。
6. IN Cell 2200 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，

二. 强大的分析软件：

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。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。

IN Cell 信息量丰富，数据量大，可以用IN Cell Miner HCM 数据管理软件来管理。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。IN Cell Analyzer Compliance Manager 合规管理软件则符合FDA 21 CFR Part 11 标准。

IN CELL6000

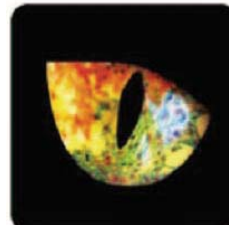


IN Cell Analyzer 6000 是最新一代高端产品，以激光为荧光光源的共聚焦成像分析系统，可以满足要求更高的高内涵分析和筛选。拥有专利技术的独有的光学系统：IN Cell Analyzer 6000 的共聚焦光阑是可变的，类似于眼球虹膜控制的大小可变的瞳孔；感光成像采用了新一代科研级 sCMOS 技术。IN Cell Analyzer 6000 为不同难度和要求的实验提供成像速度和图像质量的优化组合。

拥有专利的光学系统成像完全可调

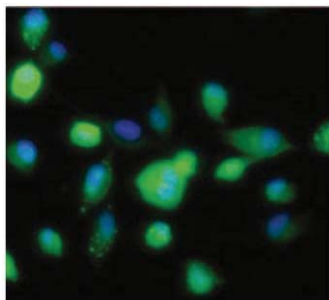
重新定义共聚焦：受眼球结构的启发，光学系统对图像采集施加新水平的控制，使性能最大化。

传统共聚焦技术和高倍物镜搭配较好，低倍和中倍物镜则用于日常的细胞学分析。

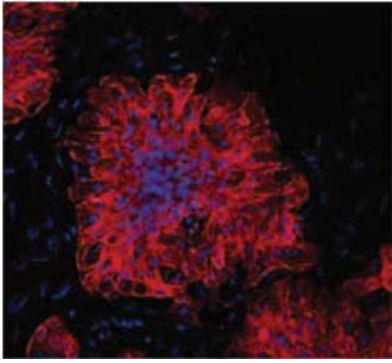


而IN Cell Analyzer 6000 的虹膜状可变光阑可以和全系列物镜搭配，将共聚焦技术广泛应用到各种高内涵分析。

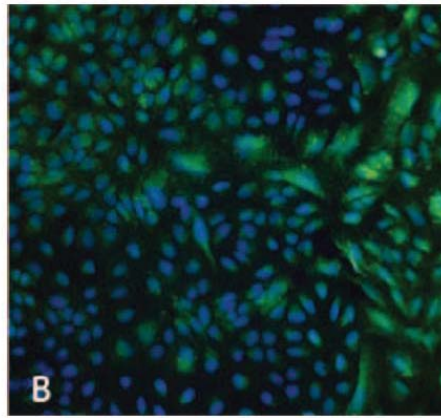
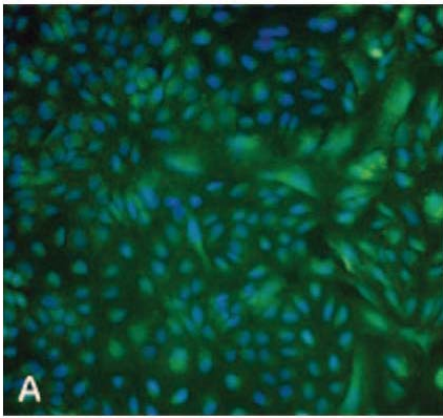
为不同的样品选择最佳的成像条件



微弱信号样品：可以使用光阑打开的非共聚焦成像方式(表达EGFP-STAT3 细胞)培养液中的细胞，



厚样品和3D 样品：使用共聚焦成像(Cytiva™心肌细胞，Cy5标记 anti-troponin I, Hoechst 33342 标记细胞核)

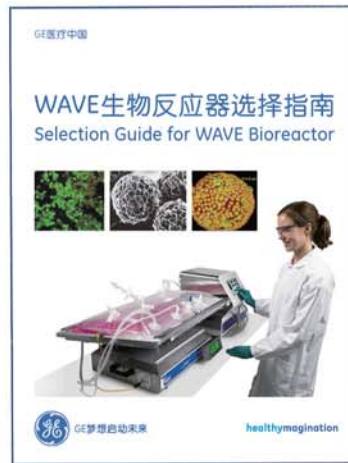
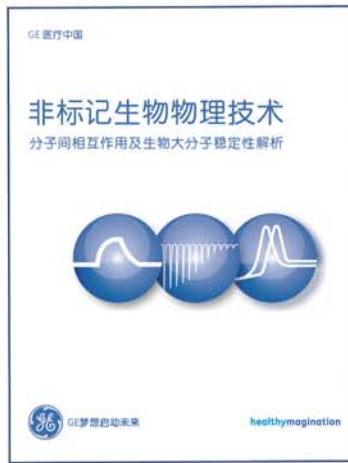


很强的背景荧光：EGFP-2 × FYVE 细胞系，Hoechst33342，FITC 游离在培养基中，同一个视野

A. 非共聚焦方式成像

B. 共聚焦方式成像，降低背景

如需更多详细产品介绍，
请联系我们，索取下列资料：



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

全国客服热线：800-810-9118

400-810-9118

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



©2013-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, healthymagination, 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.:DOC1396843