

微孔板里养活鱼!

“帝肯检测大奖”的设立初衷是为了鼓励客户的创新力和创造力，本届大奖收到来自世界各地科学家的热烈反响。经过激烈的角逐，美国佐治亚健康大学(GHSU) Jeff Mumm博士(GHSU副教授)凭借其使用帝肯的Infinite® M1000全波长多功能酶标仪，在活的斑马鱼模型上进行基于报告的药物筛选研究 (reporter-based drug screening) 而荣获第二名!



Performing in vivo HTS assays using the Infinite M1000: Dr Jeff Mumm (background), Steven Walker (at microscope) and Junko Ariga

GHSU细胞生物学和解剖学系的科学家们已经成功地在活的斑马鱼疾病模型上建立了高通量筛选体系；GHSU副教授Jeff Mumm博士解释说：“定量微孔板读数系统革命性地加快了药物开发的脚步，促进了基于报告的药物筛选在体外或计算机模拟筛选的发展，从而实现了高通量筛选体系的建立。近年来，这一策略的应用大大加快了先导化合物的发现。然而，目前的高通量筛选体系不适用于体内研究，因此，生物有效性——即备选药物在活的疾病模型下的有效性——成为药物筛选过程中的

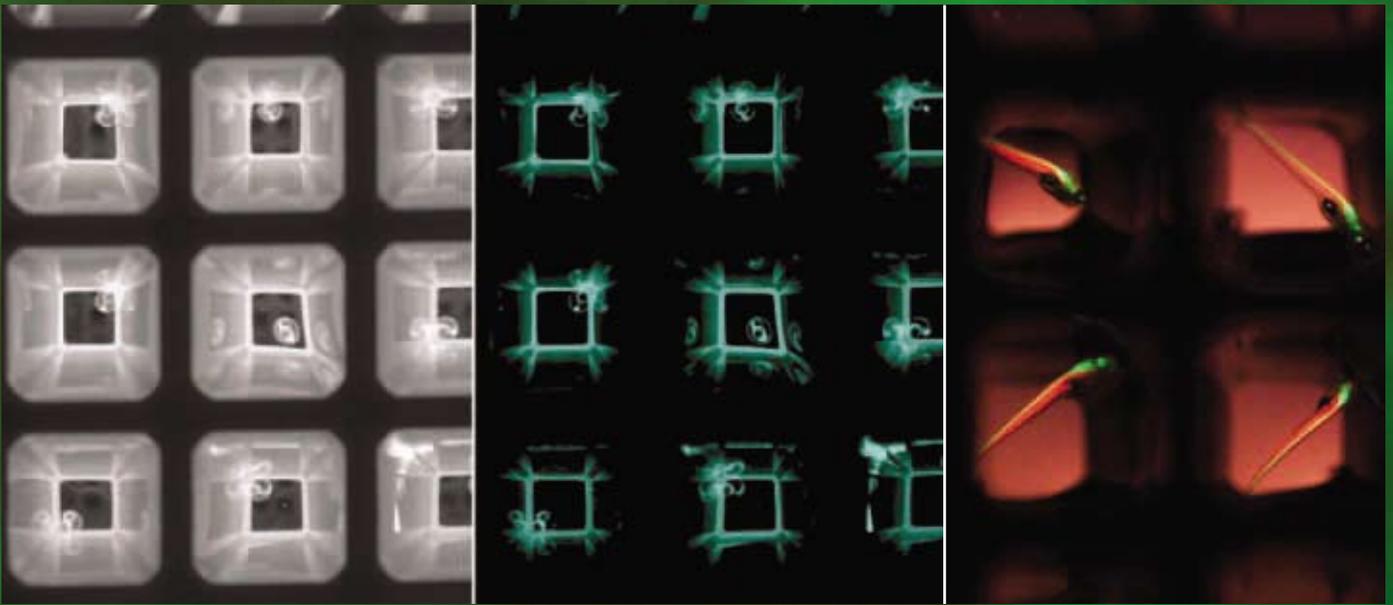
一大瓶颈。作为脊椎动物模型的斑马鱼经验证既能作为理想的疾病模型，又适用于高通量筛选，在药物筛选过程中体现出了独特的优势；对活的斑马鱼的报告水平进行定量为缓解生物有效性瓶颈提供了多元化途径。为此，我们开发了一个简单、快速、低成本的方法来检测荧光信号在个体斑马鱼疾病模型中随时间的变化。”

“我的研究方向是再生医学，同时，我们实验室也在为退行性疾病状态建立模型。我们主要研究视网膜神经

元的再生、不同种类视网膜神经元的再生途径、以及发现促进再生的因素。这项技术同时也被应用于研究一些高发疾病如糖尿病或帕金森综合症，主要用来研究胰腺中胰岛素生成β细胞及多巴胺神经元的再生。通过建立相应体系，我们能研究特定部位的特定细胞类型的损失，从而制定有针对性的治疗方法，这种介入方式相比诱导干细胞途径具有更高的特异性。”

“运用硝基还原酶靶向细胞切除技术—借鉴于癌症治疗的手段—将特定酶活性引入我们想要杀死的目标细胞种类。最初的酶是对细胞无害，而一旦引入前体药物，该酶就会将前体药物转换成毒素，这样就能在不影响周围环境的情况下特异性地杀死特定细胞。我们也将这种方法应用于斑马鱼模型，从而使得我们的研究从组织水平的神经、骨以及肌肉的再生转变为不同组织内单个细胞种类的再生。”

Mumm博士继续说道：“为了研究再生，我们需要一个以时间为变量的实验来追踪细胞何时存在，何时消失及何时重新出现。我们必须用微孔板读数仪来准确检测斑马鱼的荧光信号，于是我们选择了帝肯的Infinite® M1000全波长多功能酶标仪。Infinite® M1000为我们提供了Z轴聚焦功能以及卓越的信噪比 (>500:1)，这不仅使检测灵敏度提高了一个数量级，更重要的是能检测到相当微弱的信号。这一点非常重要，以β细胞的再生为例，幼体斑马鱼体内细胞数量相当少；虽然我们研究成熟的斑马鱼，但是被筛选出来的成体斑马鱼的



Individually arrayed, 1 day old transgenic fish embryos (left & center), and 5 day old transgenic fish larvae (right)

细胞数量远远少于幼体斑马鱼；因此对于幼体斑马鱼，我们需96孔板进行培养，但对于成体斑马鱼，我们却要用到6孔板。为了提高检测的稳定性，我们对两种不同荧光基团的比值进行测量——其中一种荧光基团与目标细胞种类相关，另一种荧光基团与环境中的对照细胞相关——我们得到了非常好的Z值，Quad4四光栅技术便是它的关键。”

“使用了Infinite® M1000全波长多功能酶标仪后，我们能够定量检测斑马鱼疾病模型中目标细胞的损失与再生，以及疾病相关信号通路中小分子诱导的变化；更重要的是，Infinite® M1000高信噪比使得我们能够监测个体斑马鱼长达数天内的变化。我们已经通过鉴别自发荧光基团、鉴定报告基团的多样性以及开发适用于高通量筛选的多孔板模式对实验体系进行了优化。”

最后，Mumm博士总结道：“Infinite® M1000全波长多功能酶标仪帮助我们开发了这个简单，快速，低成本的自动化定量系统，该系统可广泛应用于以活的斑马鱼为模型、以荧光或发光信号为报告的高通量化合物筛选或遗传筛选。”

This work was supported in part by a March of Dimes Basil O'Connor Starter Scholar Award, grant #FY 5-2010-7.

更多Infinite® M1000详情，
请浏览 www.tecan.com/InfiniteM1000

更多GHSU详情，
请浏览 www.georgiahealth.edu/som/cba