

当高速摄影 与高通量生物 化学相遇时

研究人员使用 Phantom 高速摄像机在超快速微流控实验中观察酶——这一研究领域对蛋白质工程和人类疾病的治疗具有重大意义。

您可能还记得《生物101》课程中的知识：蛋白质是生命的基石。由于这些分子具有一些相当复杂的化学和生物功能，所以科学家们认为它们是解决许多与疾病、环境保护等相关的人类问题的关键。但是，尽管有如此大的希望，我们增强和设计新蛋白质的能力受到我们对这些复杂分子的理解的限制。威斯康星大学麦迪逊分校的生物化学系希望通过高通量实验和高速摄影技术来解决这个问题。

认识 ROMERO 实验室

该大学的 Romero 实验室由助理教授 Phillip Romero 领导, 主要研究天然蛋白质的设计原理, 包括这些蛋白质如何发挥其生物学功能, 以及如何将这些信息应用于设计新蛋白质。该研究对酶有特别的前景, 酶是一种催化蛋白质, 可加速动物、植物和微生物中特定化学反应的速度。这种设计具有特定化学功能的酶的能力对包括医药、农业和工业化学在内的许多行业具有深远的影响。

作为他们研究的一部分, Romero 和他的研究团队采用了高通量实验方法, 这种方法可以快速、大规模地重复实验, 以在分子基础上解析蛋白质功能。这个跨学科的过程结合了生物化学、分子生物学、应用物理学、工程学和计算机科学等技术。

“近年来, 高通量技术的发展带来了大量新结构、基因组和功能蛋白数据” Romero 说。实验室利用这些数据开发了一些基于机器学习的工具, 用于推断蛋白质序列和功能之间的关系。此外, 团队正在利用微流控技术开发自己的高通量技术, 或者操纵微米级通道内非常少量的流体。

数百万个微观实验

Romero 和他的团队利用微流控技术在油包水微乳液中进行了生物分析。“这些技术使我们能够同时进行数百万个生物实验, 这是任何其他方法都无法做到的,” Romero 说。“像这样进行大量的实验非常有利。”

每个皮升大小的液滴都可以用来容纳涉及不同细胞、生物分子或化学组合的反应。例如, 向液滴加载单个细胞, 在一定时间和温度下对它进行孵育, 向其注入额外的试剂并根据其光学性质进行分类。这些液滴操作可在千赫频率下完全自动化, 为高通量生物化学提供了一个通用平台。研究结果提供了有关酶功能的全面信息, 这在酶的发展、DNA 合成和蛋白质序列功能关系图中起着重要的作用。

“由于这些高通量技术, 我们可以同时筛选数百万种蛋白质,” Romero 说。“在我们对它们进行变性之后, 我们使这些变体通过小通道来对它们进行分类, 以找到我们想要的变体, 例如, 那些可能对特定药物分子产生反应的变体” 识别这些靶蛋白是开发抗击疾病的新药的第一步。事实上, Romero 和他的团队目前正在应用微流控技术来筛选半胱天冬酶, 这些酶在癌症和寨卡病毒的治疗中发挥着重要作用。

“通过通道的变体流动得非常快, 普通摄像机根本无法捕捉到这一过程,” Romero 说。

通过 PHANTOM 观察人眼无法看到的东西

在微流控实验期间观察微观粒子超出了人眼可以处理的范围。除了小尺寸的微流控液滴外，“通过通道的变体流动得非常快，普通摄像机根本无法捕捉到这一过程，”Romero 说。这些液滴操作完全自动进行，以千赫兹频率或每秒数千次发生。这就是摄像机发挥效用的地方。

Romero 实验室使用了 Phantom Miro C110 高速数字摄像机，它可以在 1,280 x 1,024 全分辨率下以最高 900 帧/秒 (fps) 的速度进行录制，在较小分辨率下，其速度甚至可以以超过 52,400 fps。这款摄像机非常适合微流控应用，因为它具有灵活的外形设计、高放大倍率和一个可安装在显微镜上的 C 卡口镜头。Romero 和他的团队为他们的实验选择了 20,000 到 30,000 fps 的速度，这使他们能够捕捉快速通过通道的微小液滴。



Phantom Miro C110 以 1,280 x 1,024 的分辨率和 900 fps 的速度进行录制。

PHANTOM MIRO C110: 微流控应用的完美选择

用于微流控应用的高速摄像机必须要有较快的速度和较高的感光度，这样才能产生低噪声的高质量图像。由于捕捉微流控图像需要用到显微镜，所以使用小巧轻便的摄像机也是实验的一个关键因素。以下是 Phantom Miro C110 的一些优点：

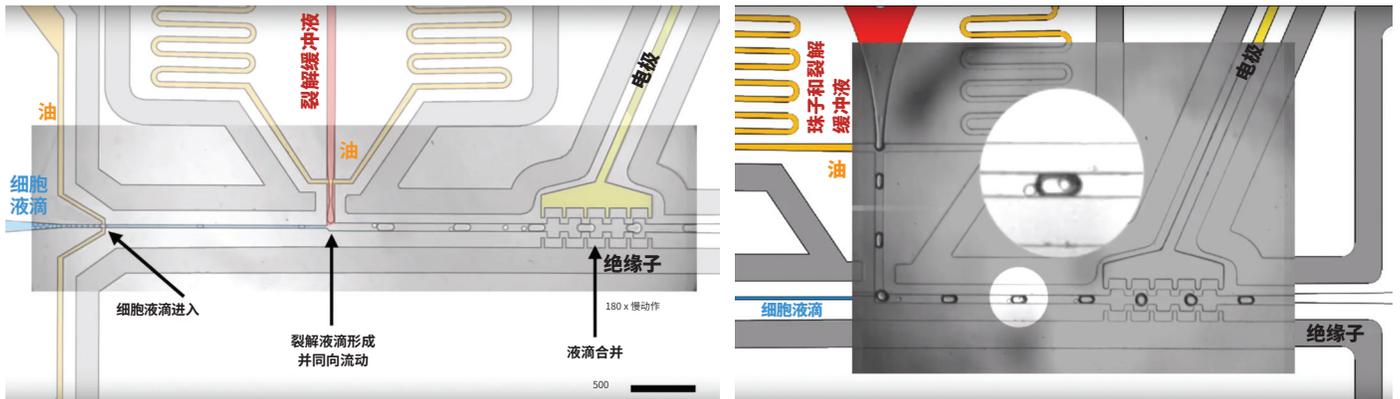
- **小巧灵活。** Phantom Miro C110 的重量仅为 1.2 磅，只有 2.9 x 3.65 x 3.25 英寸小大，是实验室环境中灵活易用的工具。
- **高放大倍率。** 摄像机具有强大的 130 万像素 12 位 CMOS 传感器，像素为 5.6 微米。小像素的摄像机传感器能够提供更高的放大倍率和分辨率，从而可为微观对象提供更多的可测量图像细节。
- **卓越的速度和图像质量。** Phantom Miro C110 具有 1.2 千兆像素的吞吐量，在全分辨率下可提供 915 fps，噪声极低，可捕捉关键细节。
- **高光敏度。** 摄像机有彩色和单色版本可供选择，可充分利用可用光线，有以下感光度值：单色 5,000 (T)、单色 2,500 (D)、彩色 640 (T) 和彩色 640 (D)，这些值根据 ISO 12232:2006 标准测量。

案例:绘制糖苷酶图

在一项实验中,研究人员使用了超高通量微流控来绘制糖苷酶的序列和功能关系。他们将酶变体包封在含有裂解试剂和荧光酶底物的微流控液滴中,并将液滴注入微流控分选装置内。在裂解或细胞膜崩解后,变体被释放到液滴中,并与基质发生反应。含有活性变体的液滴积聚有荧光产物,研究人员使用了荧光检测系统来测量它们。

研究人员借助摄像机放慢了液滴的速度并观察了它们在毛细管通道中的位置。实验还生成了一系列酶测定的显微镜图像,包括亮绿色液滴和深色液滴图像,这两个图像分别包含活性和非活性酶变体。

研究人员然后使用高通量 DNA 测序和统计分析回收了超过 100 万个活性变体,创建了糖苷酶的序列和功能数据集。根据这张图,研究人员评估了酶对突变的耐受性,发现了蛋白质中不耐受突变的位点,这些位点在酶功能中发挥着重要作用。对蛋白质的这种知识对于确定酶的作用位置和方式至关重要,该实验提供了一种可用于其他酶的成功新方法。



在一项实验中,Romero 实验室使用超高通量微流控来绘制糖苷酶的序列和功能关系。



某些 Phantom 摄像机符合出口许可标准。有关更多信息,请访问 www.phantomhighspeed.com/export。