

江南大学

精密贵重仪器及大型设备购置 可行性论证报告

仪器名称：实时荧光定量 PCR 仪

申请单位：药学院

经费类别：自筹

填表时间：2013 年 10 月 23 日

江南大学

二〇一二年二月制

填 表 说 明

一、凡申购十万元以上仪器设备(含成套设备),需进行可行性论证,并逐项填写此表。

二、十万元以上仪器设备的论证工作及论证专家一般应为:

10-40 万元的贵重仪器设备,由使用单位组织并主持论证,参与论证人员不少于 5 人,其中高级职称至少 3 人。

40-100 万元的贵重仪器设备,由使用单位组织并主持论证,参与论证人员不少于 5 人,其中外院专家至少 1 人,高级职称至少 4 人。

100 万元以上的贵重仪器设备,由使用部门会同计划部门和实验室与设备管理处进行论证。参与论证人员不少于 7 人,其中外校专家 2 人,外院专家 2 人,高级职称至少 6 人。

三、论证报告一式三份,计划部门、使用单位以及实验室与设备管理处各存一份。

四、该文件为填写模板,可根据所填内容多少自动调整。除上交本表外,还需附电子文档。

一、 申购仪器概况

仪器设备名称	中文： 实时荧光定量 PCR 仪		
	外文： REAL-TIME PCR Detection System		
依次备选机型	品牌/型号/规格		供应商及报价
	BIO-RAD (伯乐) CFX Connec™		南京润亚生物 \$40000
	ABI Step One Plus		南京必翔生物科技有限公司 \$48000
	Roche LightCycler® 96		南京奥力科学仪器有限公司 \$50000
使用实验室	生物制药工程研究室	采购联系人及联系电话	张旦旦 13961703475
主要用途	√科研 □教学 □其它	拟安装地点	生工学院 B406
主要功能	(1) 主要功能: 1、 单通道实时荧光定量检测 2、 多通道实时荧光定量检测 3、 自动编程基因扩增 (常规 PCR) 4、 可变斜率梯度摸索 5、 终点法微孔板检测 (荧光酶标仪) (2) 应用领域: 1、 相对与绝对定量基因检测 2、 基因表达水平分析 3、 基因突变检测 4、 GMO 检测及产物特异性分析 5、 SNP 分析 6、 熔点曲线分析 7、 FRET 蛋白熔点曲线分析		
主要技术指标	检测通道: 3 个, 可同时检测 2 个靶基因及 FRET 通道 激发/发射波长范围: 450-580nm * 激发光源: 3 个独立的带滤光片的高亮度 LED 光梭 * 检测器: 3 个独立的带滤光片的光电二级管光梭 * 温度梯度: 动态温度梯度 PCR 功能, 可以同时运行 8 个不同的温度, 每个温度孵育时间相同		

标	荧光方法: Taqman, Molecular Beacon, FRET 探针, SYBR Green I 等 样品载体: 96 孔板、排管、PCR 单管 反应体系: 1-50μl (推荐 10-25μl) 反应基座: 蜂窝式空气 3D 对流 * 半导体模块: 一体化均一模块, 非多块拼接 生物气溶胶预防: 有 (密封系统) FRET 检测: 有 Beacon 检测: 有 热循环方式: 半导体 (非空气加热) 最大升温速度: 5°C / s 最大降温速度: 5°C / s 温控范围: 0 -100°C 温度准确性: $\pm$ 0.2°C (90°C 时) 温度均一性: $\pm$ 0.4°C (10 秒内达到 90°C) 梯度温控范围: 30 -100°C, 梯度温差范围: 1 - 24°C 灵敏度: 能检测人类基因组中单拷贝基因 动态范围: 10 个数量级 终点法分析功能: 有 操作控制: PC 开机校正: 免 (出厂已校正) 光程校正: 免 (无光程差, 无边缘效应) 开机即用: 支持 数据分析模式: 标准曲线定量、融解曲线、CT 或 $\Delta\Delta$CT 基因表达分析、多内参基因分析和扩增效率计算、多个数据文件的基因表达分析、等位基因分析、终点分析、具有等位基因、融解曲线分析功能 数据导出: Excel, Word, 或 PowerPoint。用户报告包含运行设置, 图形和表格数据结果, 可直接打印或保存为 PDF
---	--

二、可行论证项目

1. 仪器购置的目的性和必要性 (①学科及科研情况介绍、②预期该仪器对本学科项目的作用):

①学科及科研情况介绍

本研究室长期从事生物制药工程相关研究, 涉及基因工程药物研究, 需应用定量基因检测、基因表达水平分析、基因突变检测等技术手段, 荧光定量 PCR 仪可满足以上技术要求。

②预期该仪器对本学科项目的作用: 荧光定量 PCR 的应用领域十分广泛, 主要包括以下几个方面

(1) 实际检测应用

这个层面主要是一些微生物检测, 食品检测, 环境监测以及一些医学临床应用 (病源体检测, 基因病诊断, 传染病检测, 微小残留病变检测等), 在这些方面定量 PCR 与传统的方法具有相似的灵敏度, 但是耗时少, 需要的劳动力也少, 而且它们既可以从活着的也可以从死的病原菌中检测和定量核酸, 而传统的微生物方法只能检测活的病原菌。这些主要应用到的就是定量 PCR 在核酸浓度上的简单定量, 由于之前要想在分子操作过程中知道核酸的浓度, 主要应用的方法是琼脂糖凝胶电泳和分光光度计, 但是这两种方法前者靠主观判断, 造成的偏差较大; 后者很易受样品中杂质的影响。因此定量 PCR 由于其灵敏度高、特异性强、无污染性和准确性等特点当然成为了首选。

(2) 分子生物学应用

检测应用和分子生物学应用都是利用了定量 PCR 对基因表达的检测,只不过前者是在临床实际应用上,而后者则是侧重于科学研究。在分子生物学上定量 PCR 的应用相当广泛,包括基因转录检测(即同一基因在不同组织中的表达差异),转基因生物检测,肿瘤耐药基因表达等在内的高通量基因表达检测。之前的高通量筛选基因表达差异的技术是 cDNA 芯片和差异显示,但这两种技术的缺点是只能定性而非完整意义上的定量分析。定量 PCR 技术的出现无疑为这种检测提供了极大的方便,利用定量 PCR 检测产物并进行熔解曲线分析的方法,已经对 cDNA 芯片和差异显示技术的结果进行了确认,而且得到了更加完整和精确的结果。

(3) 遗传学、SNP 分析及深入应用

点突变分析和等位基因分析:利用不同的荧光报告基团标记的 Taqman 探针分别与野生型和突变基因杂交。探针杂交的效率和其后的切除与杂交有关。如果一种染料的荧光信号明显强于另一种则说明它是一个纯合子,如果两种荧光信号都增加则表明是一个杂合子。实时定量 PCR 的数据被标在 xy 坐标轴上来区分特异的基因型。利用这种方法,能在不到两个小时内很快对 96 个样本进行基因分型。

DNA 甲基化分析:CG 岛内胞嘧啶的甲基化形成 5'-甲基胞嘧啶被认为和许多人类疾病特别是癌症有关。Laird 等人利用一种被称作 MethyLight 的技术。MethyLight 是一种基于 Taqman 探针的甲基化特异定量 PCR 技术。在扩增之前先处理 DNA,使得未甲基化的胞嘧啶变成尿嘧啶,而甲基化的胞嘧啶不受影响,用特异性的引物和 Taqman 探针来区分甲基化和非甲基化的 DNA,这种方法不仅方便而且灵敏度更高。特异的引物和 Taqman 探针被用来区分甲基化和非甲基化的 DNA。和其它实时 PCR 方法一样,MethyLight 无需电泳,因而提高了反应的灵敏性和通量。这种方法的灵敏性在食道癌病人血液中癌细胞异常甲基化的 DNA 检测中被证明。

SNP 分析:SNPs,即单核苷酸多态性,这种人类最常见的可遗传变异占据了所有已知多态性的 90%以上,因此作为研究个体对不同疾病的易感性或者个体对特定药物的不同反应有着重要的意义,也因此国际人类基因组研究学会花费大量的资金来完成人类单体型图谱。SNP 分析从根本来说其实就是确定一对染色体的每种基因的两个拷贝,哪种点突变在这两个拷贝中存在,因此利用定量 PCR 方法,并配合芯片技术可以快速灵敏的检测到 SNP 结果。

细胞因子分析:细胞因子是一种由细胞分泌、能调节自身和其他细胞功能的小分子可溶性蛋白质或多肽。这种调节蛋白主要通过调节免疫反应而在免疫系统中起着核心作用。因此在许多免疫致病途径,对细胞因子 mRNA 表达谱的可靠定量是很重要的。由于受检样本中细胞因子含量往往往往都比较低下,因此定量 PCR 以其高敏感性和准确性在细胞因子的定量中越来越受到青睐。

MicroRNA 分析:传统的检测和定量 miRNA 的方法是 northern 杂交,芯片技术以及核糖核酸酶保护分析(ribonuclease protection assays),这些方法都需要标记探针并与纯化的 RNA 进行杂交。但是由于成熟的活性 miRNA 及其前体有一段相同的靶序列,而基于杂交的各种技术又无法通过分子大小将它们区分,因此很难专一性的识别成熟 miRNA,结果导致很高的前体背景信号,而且这些技术需要标记步骤或放射性同位素,费时,费钱还不讨好。利用 Taqman 技术可以发挥定量 PCR 的优点来解决这些问题。

该款荧光定量 PCR 仪是特异性靶基因检测与定量的一体化平台,能应用于以上提到的各种研究领域,它将 PCR 热循环,荧光检测和各种分析软件结合在一起,可以动态观察 PCR 每一循环各反

应管中 PCR 扩增产物依次增加的情况。PCR 结束后可以马上得到定量结果，无需凝胶电泳分析，无需纯化 PCR 产物，无需进行任何进一步试验操作。系统采用 96 孔板，8 连管或单管，反应体积 1-50ul，具有节省时间，灵敏度高，准确性好和线性范围宽等优点，以成为相关实验工作开展不可或缺的手段与设备。

2. 购置该仪器后的机时利用情况预测及其依据:

该设备每次开机自动进行自检，约 2 分钟即可完成开机操作，此款仪器是款快速的荧光定量 PCR 仪，仪器的升温 and 降温速率最快都可以达到 5℃/秒，那么整个实验过程中如果进行 30 个循环的标准两步法定量实验，只需要 29 分钟即可完成。

该设备购置后将极大改善现有实验条件，缩短实验等候周期，预计全年使用效率为 8h * 200 天，并可对外有偿使用，收费：50 元/小时。以上依据均来自国内外应用实例，及校内外调研结论。

3. 已有同类仪器配备情况（①国内总配备情况、②附近地区配备情况、③本校同类型仪器设备配置情况）:

① 国内总配备情况：国内装机数量逾千台；

② 附近地区配备情况：省内各大高校、中科院系统、政府相关部门、制药企业均配有该仪器；

③ 本校同类型仪器设备配置情况：本校生工学院、食品学院、国家重点实验室等均有购置，本学院尚未配置同类设备。

4. 优选厂家理由及估计价格:

BIO-RAD 公司是全球第一大的 PCR 产品供应商，CFX Connect 是目前实际使用中最先进的定量 PCR 仪，其功能强大应用范围广。BIO-RAD 公司在北京、上海、广州、武汉均设有办事处和售后服务机构，其代理公司也设有售后服务机构，均可提供良好的售后服务，更重要的是还可提供配套技术支持和产品。

该设备即其应用方法是目前基因研究领域不可或缺的必要手段；尚无其他替代设备及方法；基于该设备即将开展的科研及教学任务繁重；该设备将提供研究课题中关键环节的解决方案；预计该设备将有较高的使用频率提供广泛的应用支持；厂家提供完善的售后技术及维修服务；该设备使用过程中的试剂耗品完全开放，维护成本较低；该设备及相关技术是目前世界范围内此类研究中最先进的解决方案；该设备被大部分相关引用文献所采用；该设备在国内外、校内外具有极高市场占有率；综上所述，目前尚没有能够实现该设备全部功能的其他品牌设备，该产品综合性价比最高、技术成熟、功能强大、用户众多、服务完善，生产厂家系全球最大的 PCR 供应商，建议购置。

估计价格：\$40000

5. 设备安置场地以及设施是否需要学校另行提供，如需要，请提出具体要求及预算:

不需要

6. 管理方式及管理人员配备计划

姓名	年龄	职务职称	专职或兼职	备注
耿燕	29	副教授		
张旦旦	29	实验师		

--	--	--	--	--

三、可行论证会结论或专家意见

参加 论证 人员 签字	姓 名	职称/职务	单 位	备 注
	邵 斌	教授	药学院	组长
	耿 燕	校聘副教授	药学院	副组长
	陆博峰	副教授	药学院	
	李 会	副教授	药学院	
	张旦旦	实验师	药学院	

参与论证专家意见:

该设备应用范围较广，与课题研究相关性大。
确有采购需求。

专家组组长（签名）



2013 年 10 月 22 日

四、单位意见

同意

单位负责人签字



（盖章）

2013 年 10 月 24 日