



**PBI**  
**压力循环技术样品制备系统**

## 公司简介

Pressure Biosciences Inc.简称PBI, 前身是由哈佛大学医学院的研究员Richard T.Schumacher于1978年在美国波士顿成立的Boston Biomedical Inc公司, 历经将近30年的发展, Boston Biomedical已发展成为一家优秀的致力于传染性疾病预防的公司, 并于1996年在美国纳斯达克交易所上市, 当时它拥有6000多个实验室, 遍布60多个国家。在2004年, 随着PCT(压力循环技术)专利技术的获得, Boston Biomedical卖掉了其核心业务, 开始专注于PCT平台的产品研究与开发, 随着核心业务的变更, 公司也随之改名为Pressure BioSciences Inc.经过十几年的发展, PCT平台已逐渐成熟, 研发出多种不同型号的压力循环样品制备仪。多个全球制药巨头, 著名的生物公司, 大学, 国家政府实验室等都成为PBI的客户, 如Lily, Merck, Thermo Fisher, Stanford University, Harvard Medical School, 美国FBI, FDA, US Army等不胜枚举。

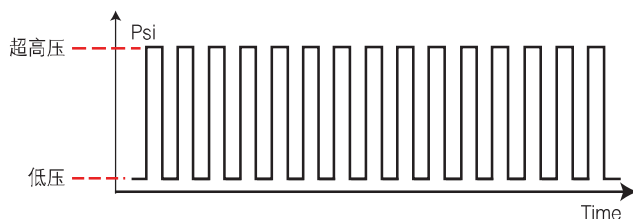


## 欢迎来到样品制备的新时代

使用以PCT ( pressure cycling technology ) 压力循环技术为核心的样品制备系统, 让您从繁琐冗长的样品制备过程解放出来。不论您的样品是来自动物、植物还是微生物, 不论它是细胞还是组织, 不论它是溶液还是固体, 短至几分钟就可以拿到你所需要的蛋白质, DNA, RNA及小分子等。无需担心样品制备过程因为人为操作误差而导致分析结果的不一致、重复性差; 无需担心样品制备过程因为时间过长而导致样品的分解与丢失; 无需担心样品裂解的不充分而导致目标分析物研究无果, 也无需再把80%的时间耗在样品制备的过程中了, 是时候把更多的精力投入到真正的研究了!

## PCT 压力循环技术 — 领导样品制备的新技术

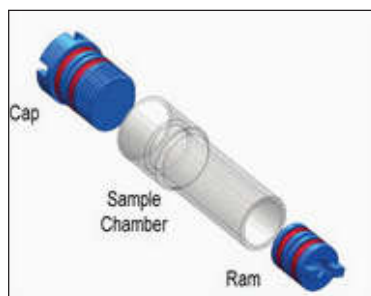
PBI 公司拥有的专利技术 PCT ( Pressure cycling technology ) 采用的是高压到低压来回循环的方式, 样品在这种压力循环中实现彻底的释放。与传统的方法如研磨、超声、反复冻融、裂解液等方式相比, 优点如下:



- **安全:** 该操作平台是一个密封的体系, 减少了与样品的直接接触以及有毒物质的挥发;
- **快速:** 在几分钟之内就可以获得所需目标分析物, 如蛋白, 核酸, 小分子等, 大大的缩短了样品制备的时间;
- **高效:** 能快速获得质量高、数量多的目标分析物;
- **应用广:** 可处理动物、植物、微生物以及非生物的样品;
- **重复性高:** 结果重复性高, 可信度高, 远超过传统方法。

## 制备原理

### 常量制备——标准脉冲管PULSE

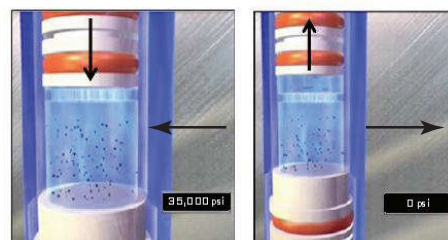


样品体积：200ul-1.4ml；处理固体量为50mg-500mg

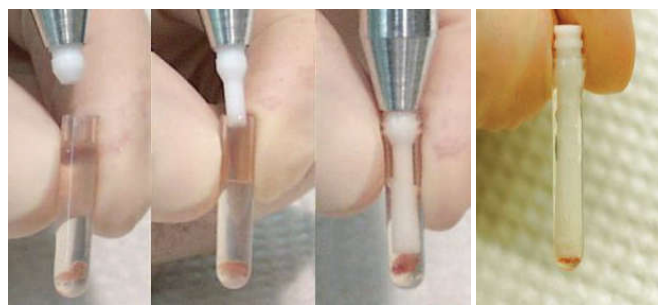
样本状态：固体，液体等皆可

提取目标：蛋白、核酸、脂类等生物大分子等。

工作原理：标准脉冲管是由管腔、带螺纹的固定塞以及可以移动的小活塞ram组成。当受到系统的高低压循环压力作用时，活塞ram会推动样品在管腔内的运动；此外，管壁受到的作用力也会均匀的传递给样品，样品在双重压力作用的条件下，能够得到充分的裂解和释放，从而就能获取所需的产物。



### 微量制备——微型管

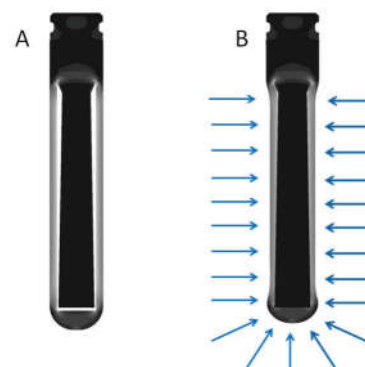


样品体积：有四种不同的规格，分别为150ul，100ul，50ul，20ul-30ul；  
处理固体量0.2-3mg

样品状态：固体，液体等皆可

提取目标：蛋白、核酸、脂类等生物大分子等。

工作原理：微型管在循环压力的条件下，其管壁会均匀的将压力传递到管内的样品中，此外，微型管也会发生同步形变，作用到样品上。从而实现了微量样品的充分提取，得到的产物得率高，重复性好。微型管制备尤其对于微量样品制备生物大分子有明显的优势，如活检组织等。



# Barocycler™ NEP2320系列 压力循环样品制备仪



## Barocycler™ NEP2320

### 产品特点

- 台式机，轻便，占用空间少，操作简单；
- 一次最多可同时处理1-12个样品，且样品之间无交叉污染；
- 最高压力35000psi；
- 可以实时灵活的编辑操作程序，也可调用已保存的方法，最多可保存99种实验方法；
- 可与外接循环水浴相连，控制反应过程的温度；同时，数显版能精确的显示反应过程的温度。



### 产品参数

- 工作压力范围：0kpsi-35kpsi
- 压力精度： $\pm 2$ kpsi
- 升压时间： $< 5$ s
- 降压时间： $< 1$ s
- 耐受温度： $60^{\circ}\text{C}$

## Barocycler™ NEP2320HD

### 产品特点

- 台式机，轻便，占用空间少，操作简单；
- 一次最多可同时处理1-16个样品，且样品之间无交叉污染；
- 最高压力45000psi；
- 可以实时灵活的编辑操作程序，也可调用已保存的方法，最多可保存99种实验方法；
- 可与外接循环水浴相连，控制反应过程的温度；同时，数显版能精确的显示反应过程的温度。

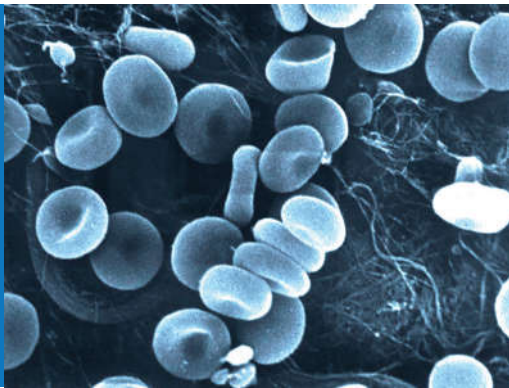


### 产品参数

- 工作压力范围：0kpsi-45kpsi
- 压力精度： $\pm 2$ kpsi
- 升压时间： $< 5$ s
- 降压时间： $< 1$ s
- 耐受温度： $90^{\circ}\text{C}$
- 尺寸：48cm\*43cm\*48cm
- 重量：36kg

# Barocyler™ HUB440

## 循环压力发生器



HUB是Barocyler家族继NEP2330之后，应市场需求开发出来的一款适用于研发和生产的循环压力发生器，它是循环压力的产生者，是PCT技术的核心部件。可以通过与电脑连接，用软件方便的对实验程序进行设置，包括升降压方式可以自己设置，如曲线式、正弦余弦式等，根据自己的需求来设置，升降压时间也可以自己设置，所用方法都可以保存起来，并随时调用。当它与样品反应池连接，它就是一款灵活的样品制备仪；当它与其他大型分析类仪器连接，如高效液相色谱仪，NMR核磁共振仪，EPR电子顺磁共振仪，它就是一个个性化压力发生提供装置。

### 产品特点

- 结构紧凑小巧，轻便可手提；
- 与电脑连用，软件控制程序，实时监控；
- 最高压力为58000psi；
- 应用广泛，除了用来样品制备，还可以与NMR，EPR，UPLC等在线连接，用于其它研究。



### 仪器连接图

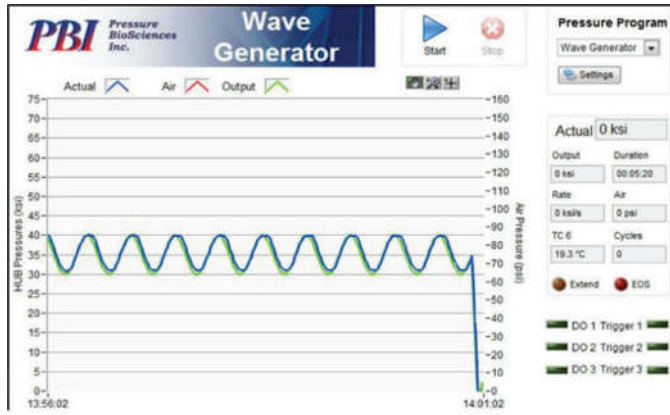
HUB与电脑连接（如图1），通过软件控制压力循环方式，产生所需的循环压力。再根据客户不同需求连接不同部件，如连接一个反应池，则是一个完整的、个性化的循环压力制备仪（图2），软件可设置的参数包括最高压力与最低压力，循环次数，增压速度等（如图3）。



（图1）



（图2）



软件设置界面 (图3)

### 技术参数

- 最大操作压力 58000psi
- 压力改变时间 < 2秒
- 尺寸大小 43cm\*30cm\*23cm
- 重量 25kg

### 与系统配套使用的耗材

FT500 PULSE tubes  
组成: 空管腔、活塞ram、多孔金属隔片lysis disc



Non-disc PULSE Tubes ( FT500-ND )  
组成: 空管腔, 活塞  
无多孔金属隔片, 适用于溶液或者悬浮液的样品



PCT Micro Tubes and MicroCaps  
组成: 微量管, 盖子  
适用于基于质谱分析的组学研究, 它化学稳定性好, 内壁防水表面的设计减少了样品吸附



PCT MicroTube Adapter Kit  
组成: Micro Tubes, MicroCaps, 辅助工具, 工具箱



# PCT ( Pressure cycling technology ) 压力循环技术的重要应用



## 蛋白质组学的研究

蛋白质组一词源于蛋白质与基因组两个词的组合。本质上指的是在大规模水平上研究蛋白质的特征，研究方向包括表达差异蛋白质组学，结构蛋白质组学，相互作用蛋白质组学等。它对蛋白质水平上分子标志物的寻找，药物靶点的设计，疾病发生机理的探寻起到重要的作用。蛋白质组学的一般研究方法包括：样品制备，双向电泳，生物质谱，蛋白芯片，光谱法，X-射线晶体衍射法等。下面就PCT如何应用于蛋白质组学的一般研究方法进行说明。

## PCT-样品制备

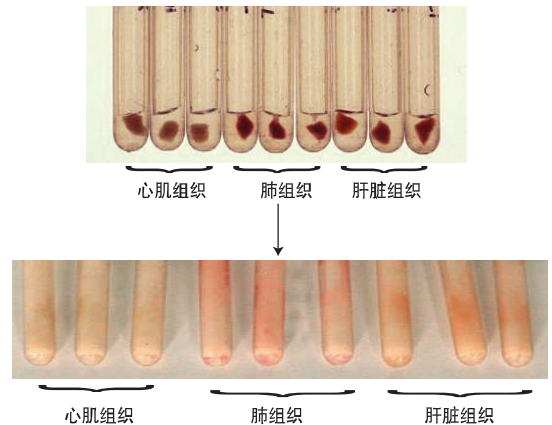
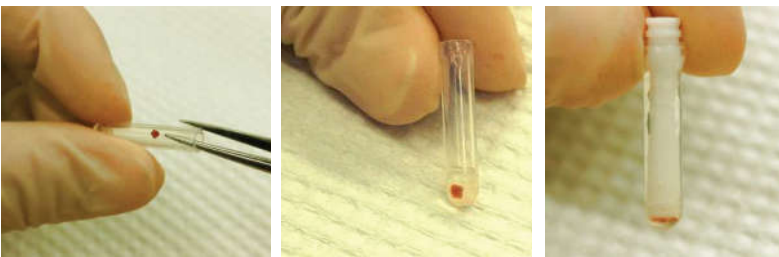
蛋白，核酸，脂类等生物大分子的提取

### 1. 常量制备



- 样品来源广泛，固态，液态皆可；动物，植物组织不限。
- 样品体积容量范围在200ul–1.4ml左右。
- 操作简单，无交叉污染，结果重复性好。

### 2. 微量制备

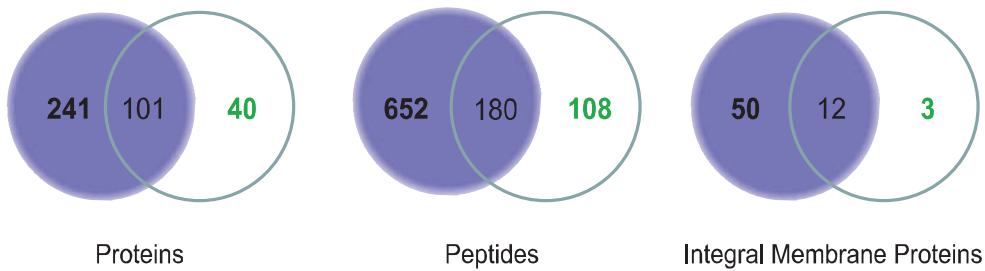


- 样品来源广泛，固态，液态皆可；动物，植物组织不限。
- 样品体积在20ul–150ul左右，尤其是动物组织，提取最低只需0.2mg样本。
- 操作简单，无交叉污染，结果重复性好，当样品量多的时候，仪器最少一次可同时进行12个样本的提取。

传统的样品制备方法包括：机械研磨，超声，裂解液法等。这些方法中，有的因为制备方式剧烈而导致蛋白丢失，有的因为方式温和而使得蛋白获取不完全，或者因为制备过程温度的影响导致蛋白降解丢失。与传统方法相比，PCT样优势在于：

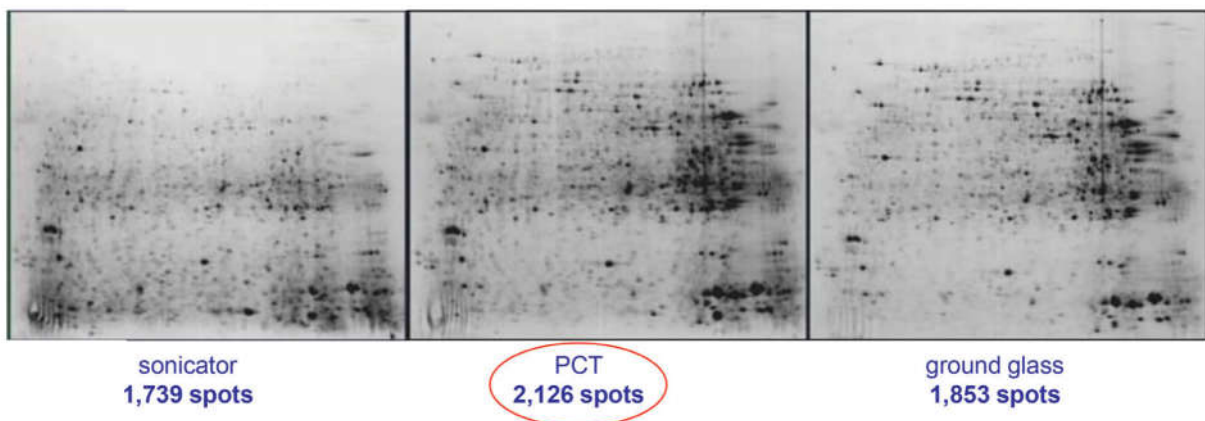
- 裂解效率高，通过仪器设置程序，批量处理，裂解彻底。
- 能够获得传统方法难以获得的蛋白，如膜蛋白。膜蛋白在细胞信号通路转导，细胞应答反应等细胞活动中起着
- 非常重要的作用。我们用PBI的Barocycler与Thermomixer作对比，结果如下，基于PCT技术平台能获得更多更高质量的蛋白（如膜蛋白）。

	Barocycler, 1h	Thermomixer, 18h
Unique Peptides	832	288
Unique Proteins	342	141
Integral Membrane Proteins	62	15



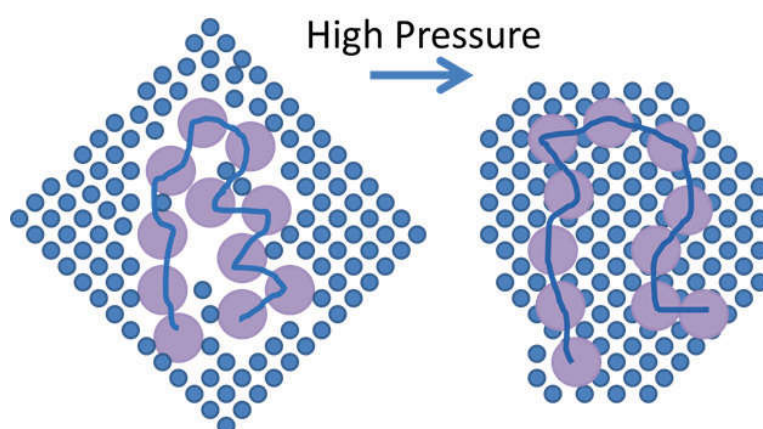
哈佛大学公共卫生学院实验证明，PCT提取膜蛋白优于传统方法，且重复性高。  
(来源：Journal of Proteome research, 2011, 10[12]: 5536–5546)

用PCT技术进行样品制备，样品损失小，得到的蛋白点更多。如图所示，用传统方法超声、研磨与PCT方法进行对比，PCT得到的点明显更多。





## PCT-促进酶解



在循环压力的条件下，蛋白质的结构发生可逆的变化，被“舒展”开来，如侧链氨基酸的疏水作用会减弱，静电作用会加强，这样酶液会更容易进入到蛋白质分子内部，能够更充分的与蛋白接触，最终能得到更充分的酶解肽段，对于那些酶解困难的蛋白也能够比较充分的酶解。同时，酶解的速度也是极大的提高了，从常规10–16h缩短到只需要1h左右就可以完成。

因此，PCT技术可以保证酶活性最高的条件下，在最短时间内达到最优酶解效果。

Comparison of Standard and Pressure-Enhanced In-gel Trypsin Digestion. Number of peaks identified, number of peptides assigned, and sequence coverage.

**Standard Digestion: 16 hours. PCT digestion: 45 minutes**

Protein	No of peaks detected, *SNR > 20		No of peptides assigned by PMF		%Sequence Coverage		No of peptides assigned by MS/MS	
	Standard	PCT	Standard	PCT	Standard	PCT	Standard	PCT
GIOX	97	92	14	17	38	49	7	9
PyKin	112	128	25	30	59	66	10	13
Cataiase	86	80	18	21	45	50	11	14

glucose oxidase (GIOx), pyruvate kinase (PyKin)

Data provided by Drs. Michail Alterman and Melkamu Getie-Kebtie at FDA, Bethesda MD, USA

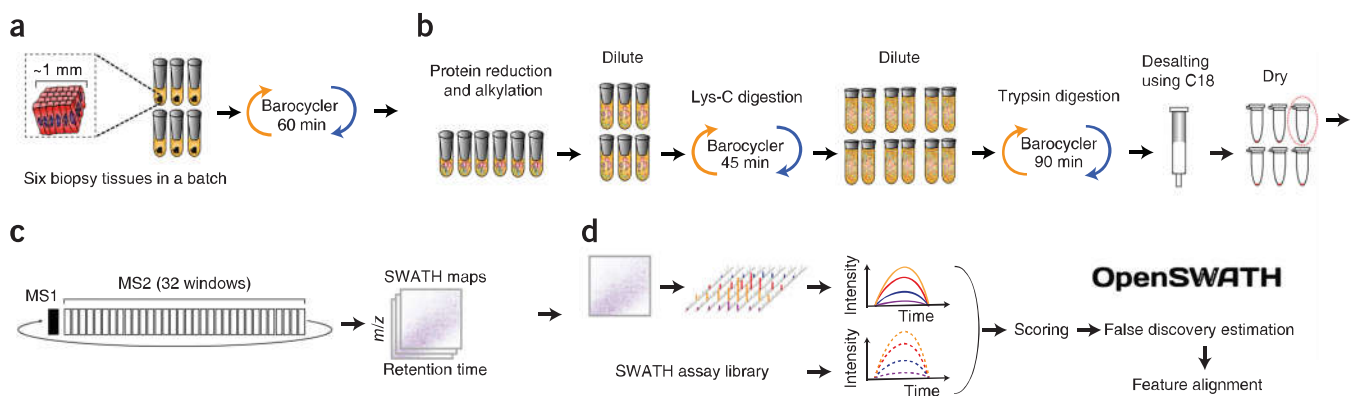
## PCT-SWATH:

### PCT-样品制备&PCT-促进酶解&SWATH-MS质谱技术三者完美的结合

基于质谱技术的蛋白质组学的研究，想要在短时间内获得产量高，重复性好，操作简单，鉴定到更多种类蛋白质的结果，并非一件容易之事。尤其是对于少量或微量的样本，如活检组织，就更加困难。研究人员将压力循环技术（PCT）和SWATH-MS技术的方法结合起来，将小量的组织样本转变成单个，永久性的数字文件，该类文件基于质谱技术，记录着样本的蛋白质组学信息，并具有快速和可重复性特点。该方法导出的蛋白质组学图谱文件能够用于不同样本之间特定蛋白质的分析，重分析，对比以进行检测和量化。

#### PCT-SWATH工作流程：

利用PCT压力循环技术来进行提取和酶解，能快速有效的得到所有蛋白质的信息。大大的节省了时间，让原本需要好几天才能完成的事，缩短到十几个小时即可。



全文见：

Rapid mass spectrometric conversion of tissue biopsy samples into permanent quantitative digital proteome maps.

--published online 2 March 2015; *Nature medicine*. doi:10.1038/nm.3807

## 寻找生物标志物：

### 利用PCT-SWATH平台寻找生物标志物

糖尿病是一组以高血糖为特征的代谢性疾病，世界范围内影响着亿万人民的健康。所以，糖尿病的早期诊断对于糖尿病的预防与治疗有着非常重要的意义。

寻找糖尿病生物标志物：

- (1) 取样来自人体活检组织，或FFPE石蜡包埋切片；
- (2) 利用压力循环技术PCT进行微量组织蛋白提取，提取完后进行PCT酶解；
- (3) WATH MS进行数据分析。



## 基因组学的研究

### DNA提取——刑侦取证

由于样本的复杂性，取样现场因为样品DNA量少或者难以提取，扩增，导致后面的分析过程变得困难重重，劳民伤财。现场取样提取DNA主要面临三个问题：

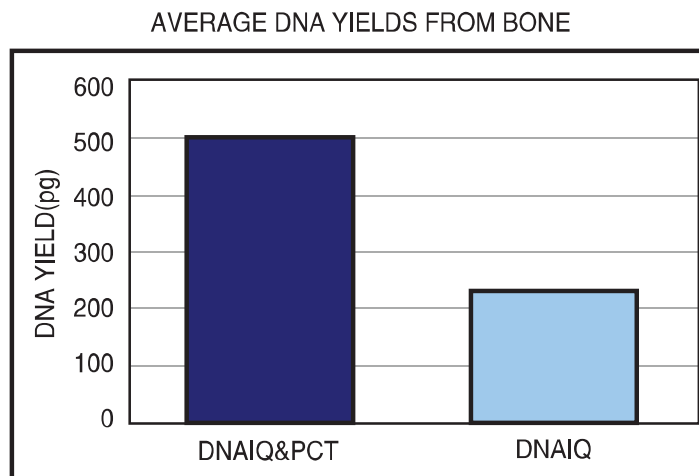
- 一是：提取样本DNA比较费时，时间以天为单位计算。
- 二是：有些样本的DNA含量少，难以提取。例如骨头、毛发等。
- 三是：有些样品因为受到污染，或者因为搁置时间太久等因素而导致提取DNA无果。

### PCT能够解决或者改善现状

- 基于PCT的原理，样品提取时间短，能够快速得到结果，重复性好，产量高，且能实现批次处理高通量。
- PBI公司得到了美国国家卫生研究所（NIH）以及美国国家资源研究中心（NCRR）的基金支持，拥有多项核酸提取专利，如No.6111096—“核酸分离纯化”专利，是多种类型样品的DNA提取技术，包括法医样品，血液，体液，细胞等。除此之外，PBI也致力与该领域的重要客户合作，开发出针对骨头，头发等特殊样本DNA提取的方法与试剂。

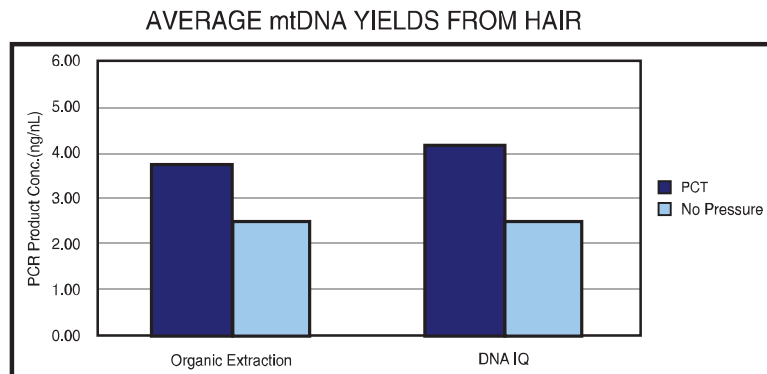
### PCT-骨头、头发DNA提取

在相同的实验条件下，对于具有挑战性的样本，PCT能够显著提高DNA的产量，缩短样本处理时间，降低成本。以提取骨头DNA为例，DNA IQ（Promega Corporation）为提取缓冲液，对比使用PCT与没有使用PCT DNA的产量。结果显示，在使用DNA IQ缓冲液的条件下，联合PCT提取的DNA产量是没有使用PCT的2倍。



来源：北德克萨斯州立大学健康研究中心提供，“Pressure Cycling Technology(PCT)  
Application for DNA Extraction from challenging Forensic samples”

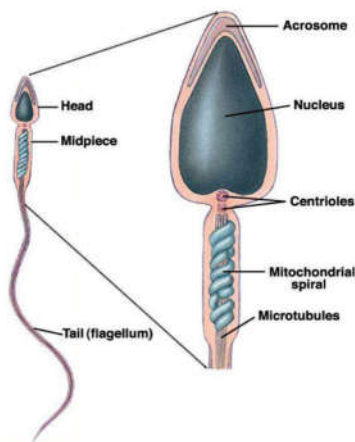
以另一个具挑战性的样本头发为例，以头发为例，结果如下：PCT能够显著提高DNA提取产量。



来源：北德克萨斯州立大学健康研究中心提供，“Pressure Cycling Technology(PCT) Application for DNA Extraction from challenging Forensic samples”

## PCT-精斑分离

两步法从棉签上分离精斑中的精子细胞与上皮细胞



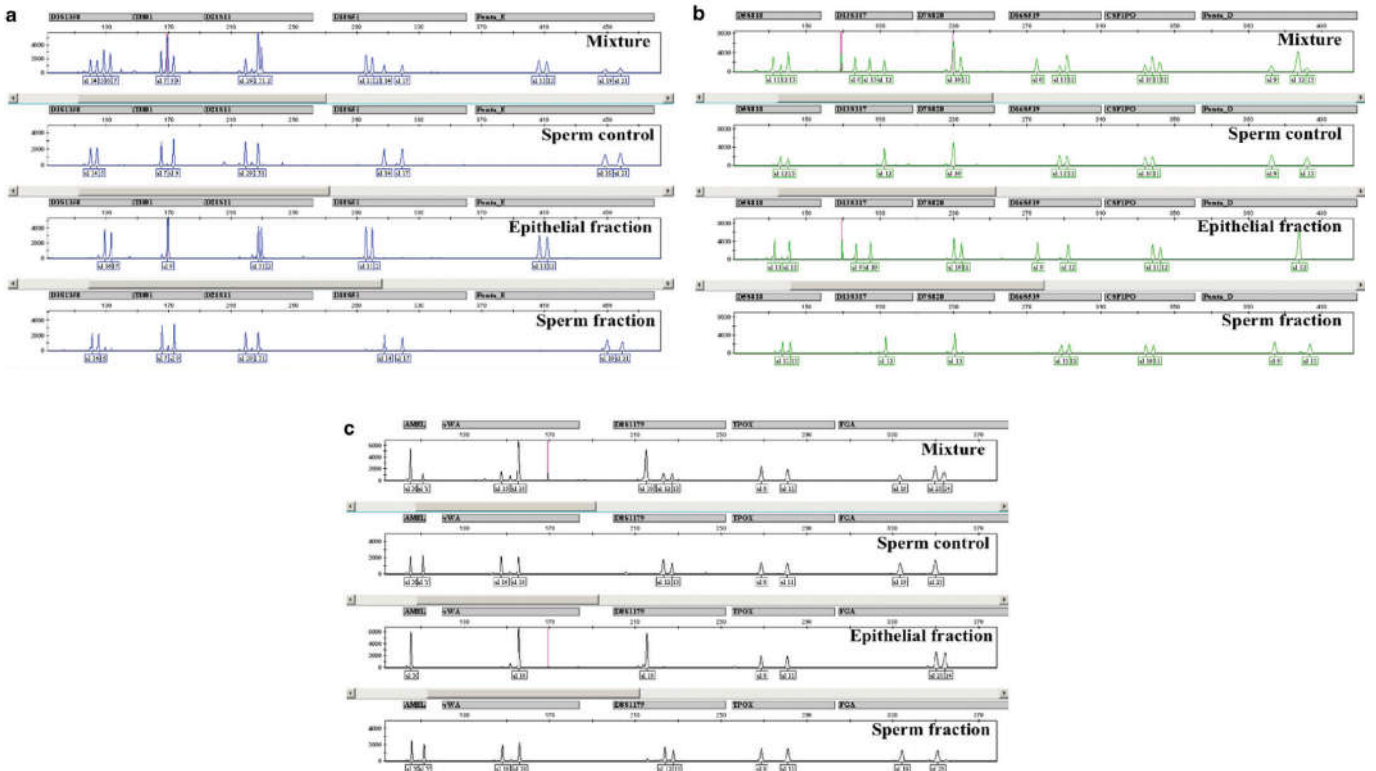
Buccal Epithelial cell

上皮细胞：体积更大，结构更分散，更容易受到压力的影响而破裂；

精子细胞：其DNA与精蛋白有关，这种蛋白质半胱氨酸的含量高，且与二硫键交联，含高浓度的DNA

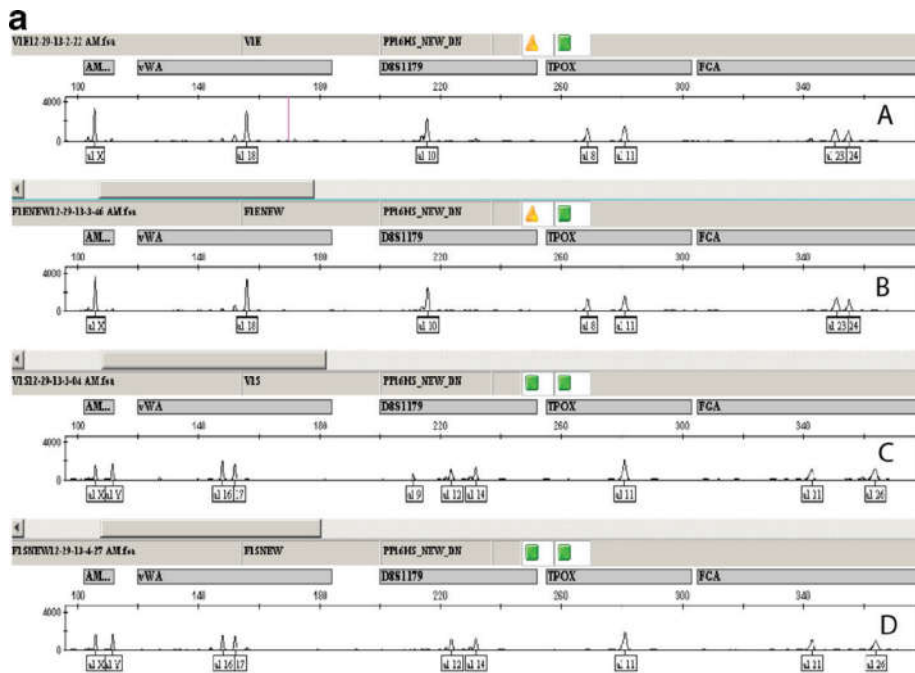
两步法如下：

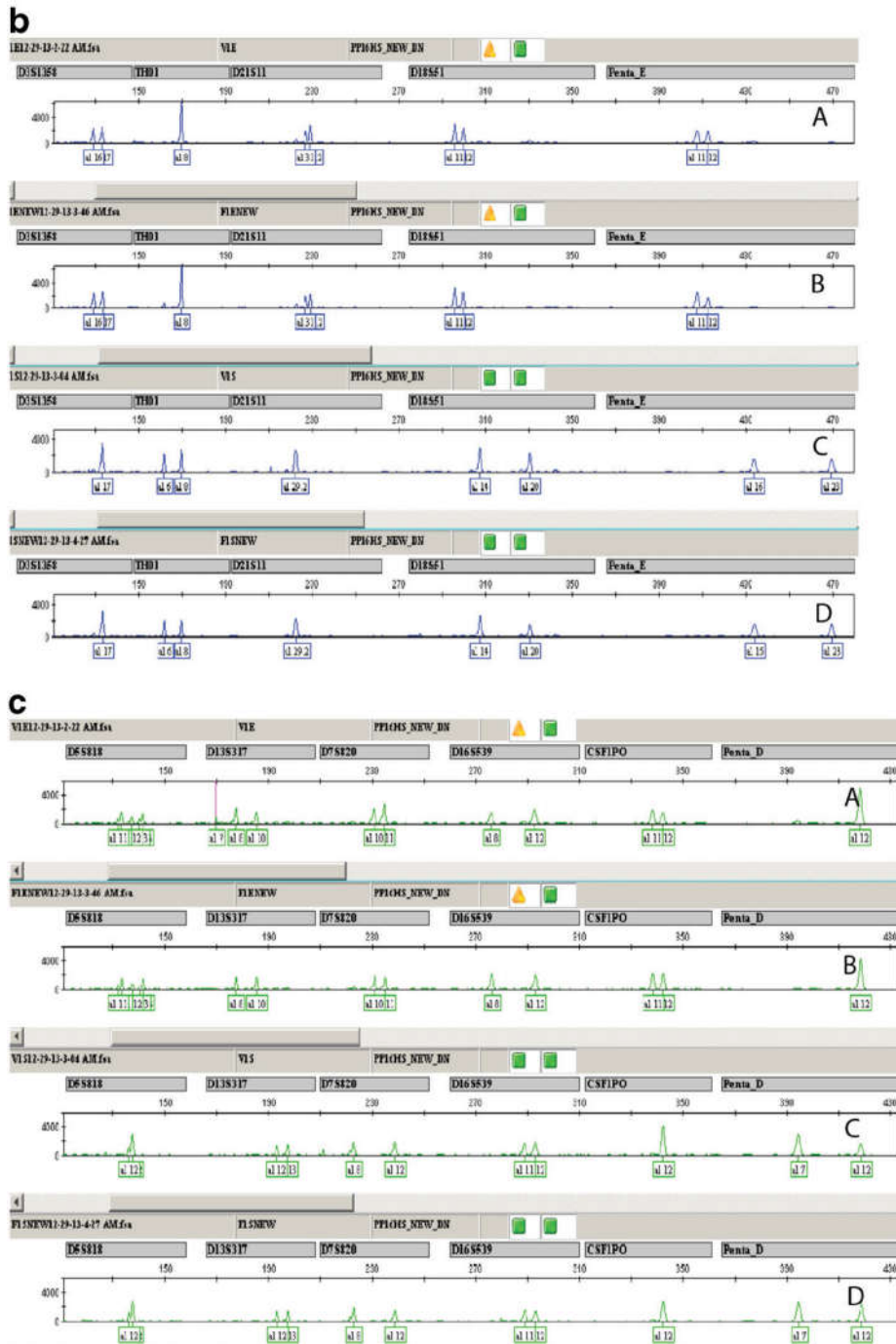
- (1) 转移棉签样本到PCT专用的脉冲管中；
- (2) 加0.4MNaOH, PCT反应10min, 高压20000psi, 10个循环；
- (3) PH7.5 2M的Tris中和后, 离心弃上清；
- (4) 高温0.4M NaOH, 加热棉签到95℃, 5min
- (5) PH7.5 2MTris中和, 离心弃棉签；
- (6) 纯化上清液, 获得目标DNA。



**STR分型数据:**

- A: 精子细胞 (用现有方法提取)
- B: 精子细胞 (PCT方法提取)
- C: 上皮细胞 (用现有方法提取)
- D: 上皮细胞 (用现有方法提取)





两步法能够快速有效的提取分离精子细胞，时间大概20min就可以完成。所用试剂经济实惠。全文见：  
 The application of alkaline lysis and pressure cycling technology in the differential extraction of DNA from sperm and epithelial cells recovered from cotton swabs—Published on *Anal Bioanal Chem*. DOI 10.1007/s00216-015-8737-8.



**PBI** Pressure BioSciences Inc.



 Reeko

睿科仪器有限公司

Reeko Instrument Co., Ltd.

北京

地址：北京市朝阳区朝阳路十里堡甲3号都会国际A座19层K室

电话：010-85861201

传真：010-85861569

上海

地址：上海市浦东新区张江高科园张江路185号圣御大厦310A室

电话：021-38751575

传真：021-38760115

武汉

地址：湖北省武汉市洪山区武珞路442号中南国际城D2-2201

电话：027-87257286

传真：027-87257286

厦门

地址：厦门市火炬高新区创业园伟业楼N206室

电话：0592-5800190

传真：0592-5800191

应用技术支持及培训中心

地址：厦门市火炬高新区创业园伟业楼N305室

电话：0592-5711722

传真：0592-5711721

服务热线：400-885-1816 | 网址：[www.reeko.cn](http://www.reeko.cn) | 邮箱：[info@reeko.cn](mailto:info@reeko.cn)