

APPLICATION NOTE

QPix400 微生物筛选系统： 更多功能，更多微生物

无论你是从事发现新一代抗生素，或者挑选克隆测序，还是把微藻转化为生物燃料工厂的研究，为了发现最好的克隆，你可能需要反复地筛选成千甚至上百万个克隆。而且除了筛选，还需要克隆涂布和克隆复制。

自动化克隆筛选系统能够加速和简化这些费力的过程。你需要用基于荧光和形态学的筛选替代在限制性培养基中生长克隆的手动挑选吗？你需要研究其他微生物，而不仅仅是大肠杆菌吗？QPix400微生物克隆筛选系统能完成上述所有的工作，包括基于形态学和荧光强度的克隆筛选，克隆涂布和克隆板的复制，适用于细菌、真菌、藻类、噬菌斑和酵母。

QPix400微生物克隆筛选系统支持更多微生物筛选和多种功能模块，包括荧光强度，蓝/白挑选，克隆大小和邻近度，抑菌圈。你自定义挑选参数，仪器自动完成挑选。

克隆挑选流程

无论你选择哪个挑选模块，QPix400系统的任何型号都遵照相同的流程。

1. 打开QPix的软件，2. 设定挑选的参数，比如：克隆大小，克隆形状和其他的形态学特征，对于抑菌圈的检测，在抑菌圈模块下设定参数。3. 克隆在白光成像模式下检测，如需要的话，可以进一步在荧光成像模式下检测。

白光成像克隆筛选

对大多数研究来说，用QPix400系统在白光成像下筛选克隆是最常用的方法。举个例子，涂布委内瑞拉链霉菌，37°C培养过夜，然后克隆在白光下挑选。智能化的软件分析图像，满足设定参数的克隆黄色显示并被自动挑取（图1）。不满足设定参数的克隆红色显示。

荧光成像克隆筛选

荧光挑选，可以大大地减少高价值克隆的早期筛选时间（图2）。使用合适的荧光标记，结合形态学参数和功能的自动筛选，快速获取满足要求的，数量更少的克隆，然后进行进一步的下游功能筛选和鉴定，从而节省时间和人力物力。

特点

- 快速 — 每天挑30,000个克隆
- 高效 — 成功率>98%，琼脂糖厚度感应器，自动调整挑针高度
- 优化 — 不同微生物组织特异性挑针
- 靶向 — 荧光定量，用户自定义挑选参数
- 智能 — 智能的克隆挑选软件

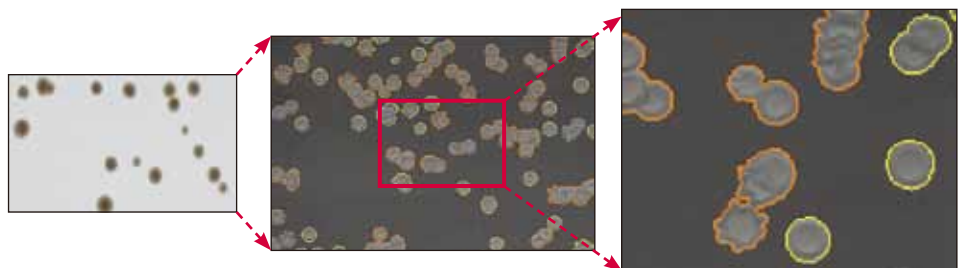


图1：涂布的委内瑞拉链霉菌(左侧)。智能软件模块基于用户设定参数检测到想要的克隆(中间和右侧，黄色显示克隆)，排除不满足的克隆(中间和右侧，红色显示克隆)。

基于功能的荧光筛选方法的实例。尼罗红(Nile Red)，一种亲脂性的荧光染料，用来筛选生产生物燃料的高产油脂浑浊红球菌PD630。在这个实验中，克隆的形状、直径和圆度被调到最优值，平均的荧光强度阈值设定大于50,000来挑选显示高荧光，即高油脂积累的克隆(图3)。

克隆的油脂积累程度挑取后进一步验证。挑取链霉菌PD630液体培养基培养过夜，然后在培养液中加入亲脂性荧光染料BODIPY 505/515(Life Technologies)，终浓度为0.5ug/ml。使用多功能酶标仪SpectraMax M5检测荧光浓度，背景荧光用阴性对照(大肠杆菌)显示(图4，红线)。实验证明，QPix420挑取的高油脂积累的克隆具有更高的荧光强度。

蓝/白克隆筛选

挑选蓝白克隆广泛用于LacZ报告系统重组子和非重组子克隆的选择。这类实验只需用QPix400系统白光成像，再通过软件的蓝白选择模块自动识别蓝色克隆(图5A)和白色克隆(图5B)，分别挑选，通过调整直方图和克隆的圆度、纵横比、直径和克隆邻近度(图5C)，可以进一步优化克隆的选择。

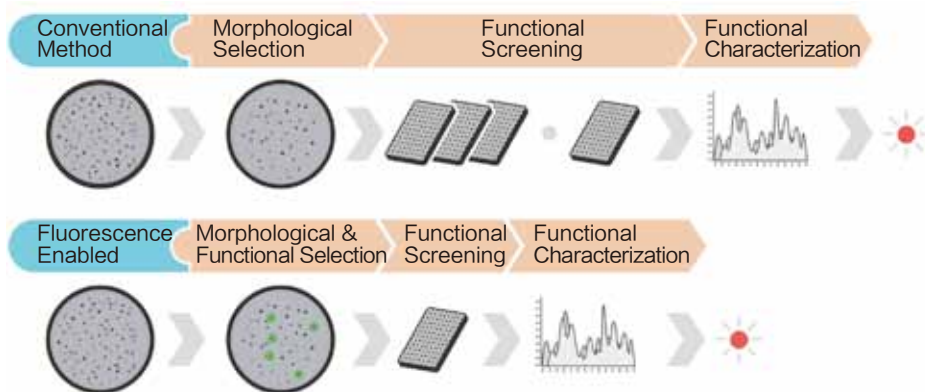


图2：聚焦高价值克隆的检测和筛选，荧光选择节省了筛选时间。

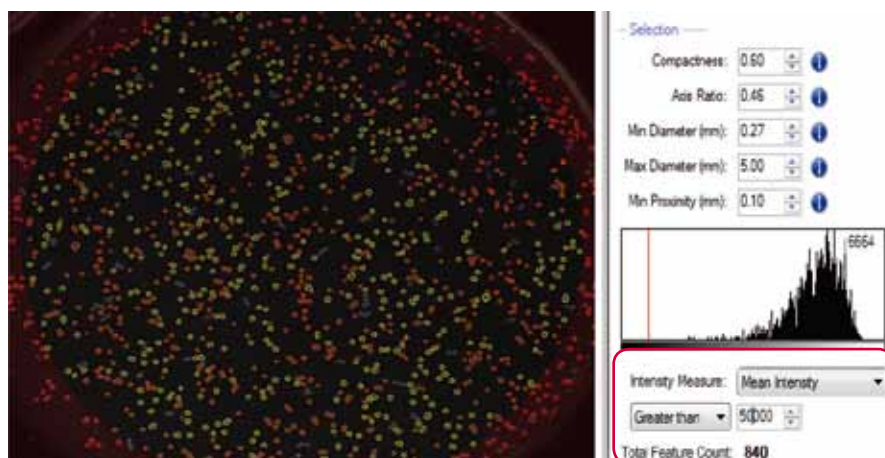


图3：QPix400系统基于荧光强度客观选择的克隆能反映克隆油脂积累。

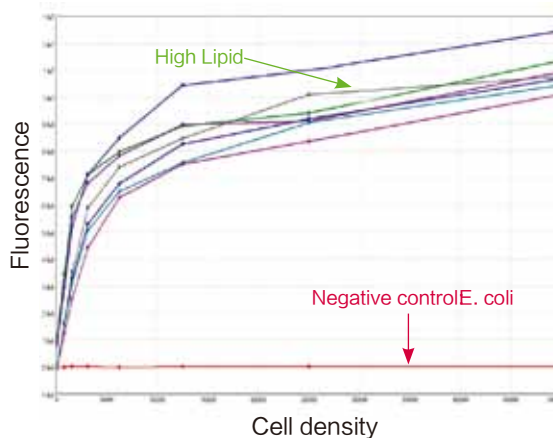


图4：用BODIPY505/515亲脂性燃料染色的产高油脂克隆在SpectraMax5多功能酶标仪上的荧光读数和阴性对照读数。高产油脂克隆显示更高的荧光值，相反，阴性对照显示一个平整的信号(红色显示)。

抑菌圈克隆筛选

基于微生物库筛选和选择抗生素生产微生物菌株，琼脂板抑菌圈的检测是非常普遍的。克隆的抗菌活性是通过克隆产生抗菌物质抑制细菌生长产生的透明圈大小来检测的。透明圈的直径大小和抗菌物质的数量呈正比例。因此，高价值的菌株会产生最大的透明圈。

QPix 400系统软件中抑菌圈检测模块，可以对每个产抗菌物质克隆的大小和由抗菌物质产生的透明圈的大小进行量化，从而，能够选择和挑选产生最大透明圈的最优克隆(图6)。

为了使用抑菌圈模块高通量筛选微生物库或进化研究，微生物库可以点在QTray上筛选和选择。48个克隆生长在QTray上，使用QPix软件抑菌圈检测模块(图7)可靠地识别、选择和挑取了三个产生抑菌圈的克隆。

这个方法是经过检验的高通量从大量微生物库中筛选，识别和挑取高产克隆的可靠的方法。

不仅仅是大肠杆菌筛选

克隆接种的重复失败会引起研发项目延迟、提高成本或丢失高价值的克隆。为了保证不同微生物最优的接种成功率，Molecular Devices提供了独一无二，不同形状、不同大小、不同纹理的挑针组合。每一种设计的组织特异性挑针满足了微生物克隆的形状，粘滞性，粘稠度和其他影响挑取效率的克隆特性。

同时，琼脂厚度感应装置快速自动决定最优的挑取高度，因此获得最优的接种成功率和微生物的生长结果。

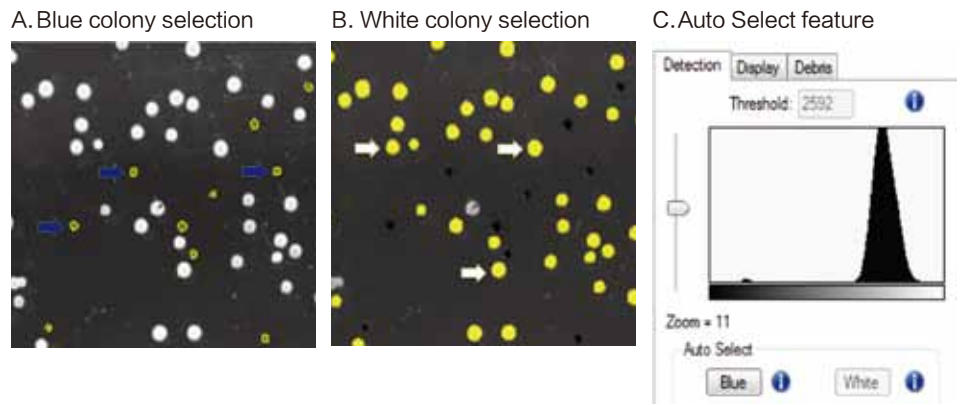


图5: (A)软件自动识别的蓝色克隆用蓝色箭头显示。(B)软件自动识别的白色克隆用白色箭头显示(C)灵活的软件设置允许手动调整荧光阈值，优化结果，比如获取更强的蓝色克隆。

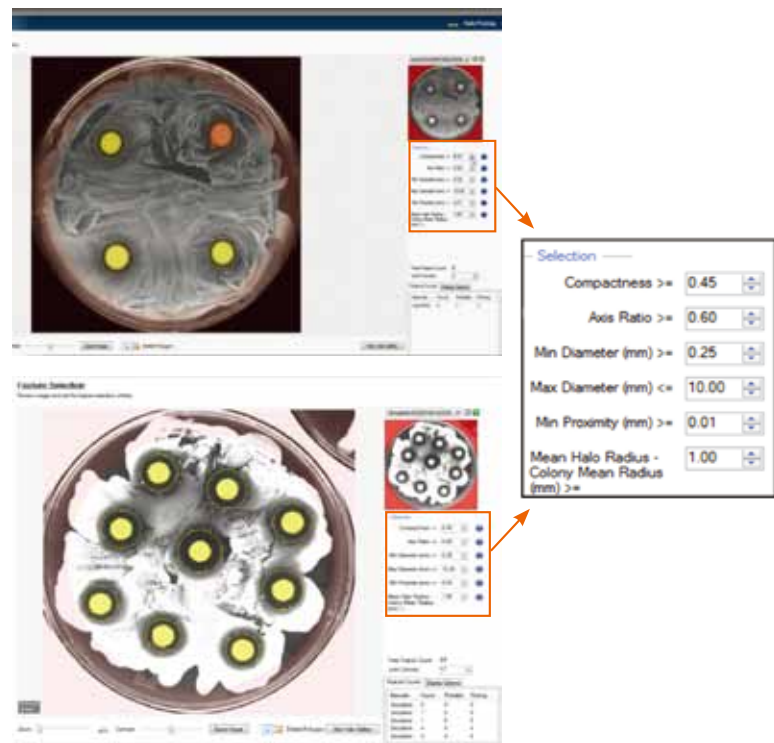


图6: QPix软件的抑菌圈模块能识别克隆及其产生的透明圈大小。基于用户设定的挑选参数选择并挑取产生透明圈的克隆。

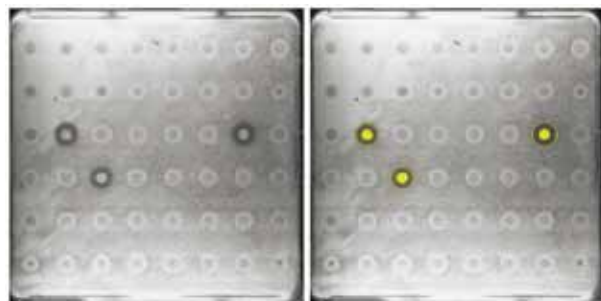


图7: 抗生素发现研究，高通量筛选产生抑菌圈的克隆库。软件已选择的产生透明圈的克隆用黄色显示。

简而言之，合适的挑针和自动琼脂厚度感应组合，可提高微生物克隆接种效率的40%(图8)。

QPix400系统软件能够自动识别和挑选更广泛微生物，具有更大的实验灵活性(图9)。最优挑选大肠杆菌的参数不一定适用于酵母、藻类或其他具有不同属性微生物的挑选。QPix400系统自定义设定挑选参数，如形状、大小和克隆之间邻近度可确保克隆挑取的高效性和准确性；组织特异性挑针则确保了克隆接种的高成功率。

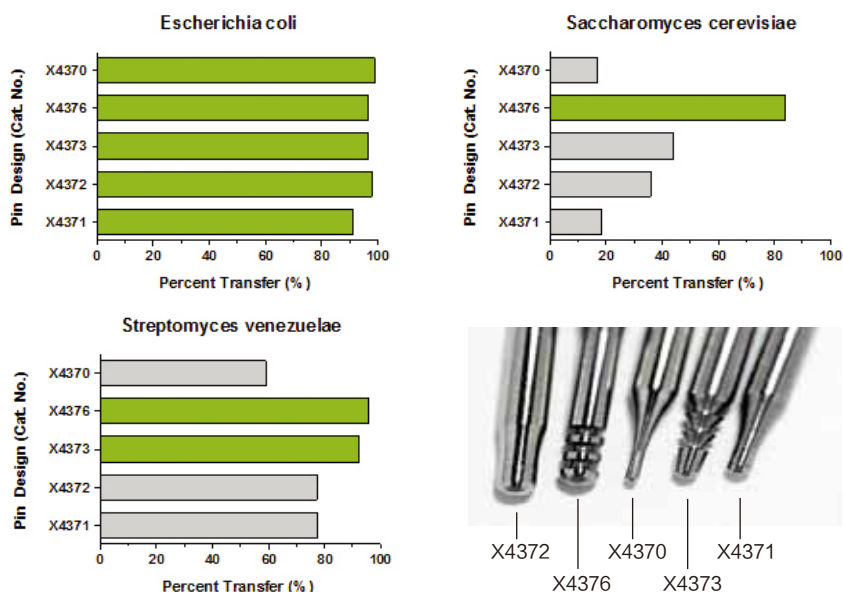


图8：微生物和克隆挑针的不同组合能导致克隆转移效率差别非常大。图中显示了大肠杆菌、酿酒酵母和委内瑞拉链霉菌的代表性的数据集。

总结

精细的软件运算法则，简单定制挑选参数，以及组织特异性的挑针，使QPix400微生物筛选系统成为生命科学综合应用独一无二的自动化筛选平台。拥有QPix400系统，挑取正确克隆轻而易举。

Molecular Devices QPix 团队将不断补充新的应用

www.moleculardevices.com/qpix-resources

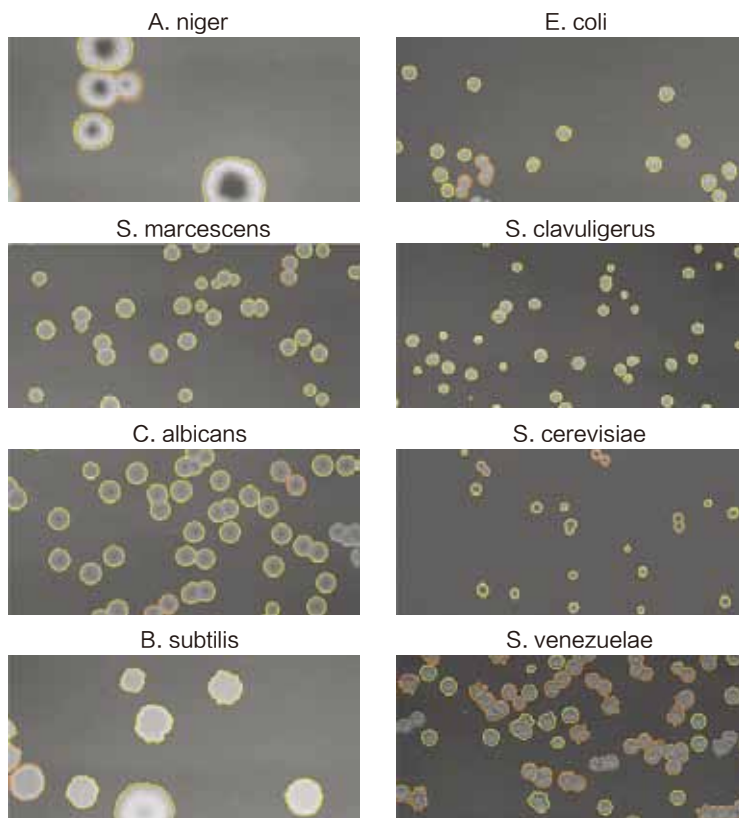


图9：基于用户设定的参数：圆度、轴比、大小和克隆邻近度，QPix系统软件能够识别形态学截然不同克隆。黄色边缘的克隆是满足参数的，而红色边缘的克隆是不满足参数被剔除的。