

# 膜的魔术

## ——Millipore常用实验室产品简介

Allen He

Product Manager-consumables & reagents

June 2015

## Milestones & Millipore Firsts

**1954 - Millipore founded (first US based membrane company)**

**1956 - Millipore filter certified by a state laboratory for coliform analysis**

**1964 - First ultrafiltration membrane developed**

**1967 - First centrifugal ultrafiltration (**Centriflo**) product developed**

**1971 - First sterile syringe filter (**Millex®**)**

**1975 - Southern hybridization (**HA membrane**) described**

**1979 - Western blotting, (**HA membrane**) described - Towbin.**

**1979 - **Durapore®** membrane manufactured.**

**1983 - Introduction of first centrifugal ultrafilter with “reverse spin” (**Centricon®**)**

**1985 - Introduction of PVDF blotting membrane (Immobilon™ P)**

**1996 - Introduction of low-binding, high flow membrane (Express)**

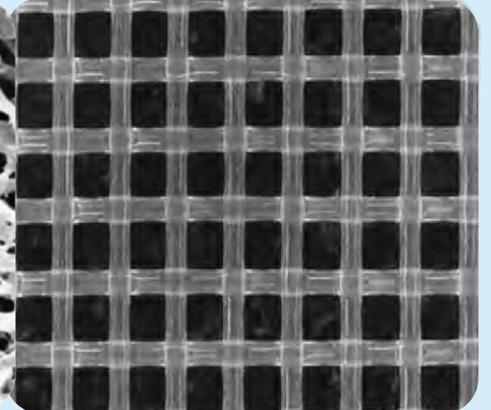
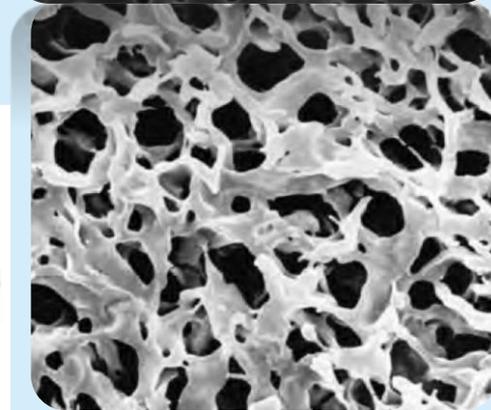
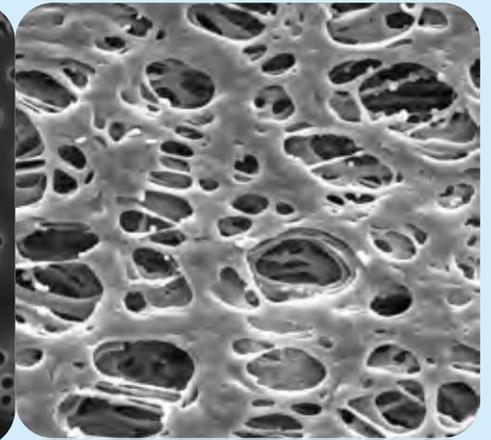
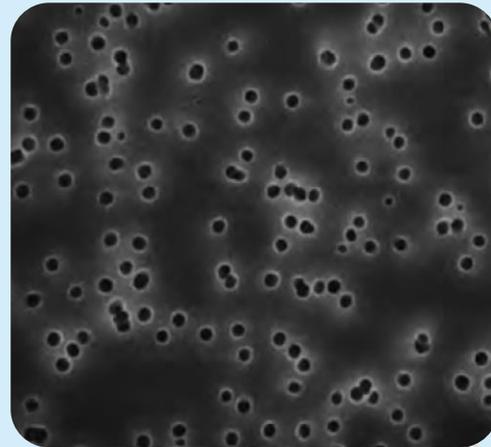


**2012**

# MILLIPORE

# 默克密理博膜技术行业标杆产品

## 膜的“魔术”



核心技术是Millipore的膜——衍生出各种形式的产品



支撑

细胞培养

Millicell  
MultiScreen

Blotting  
PVDF/NC

分离

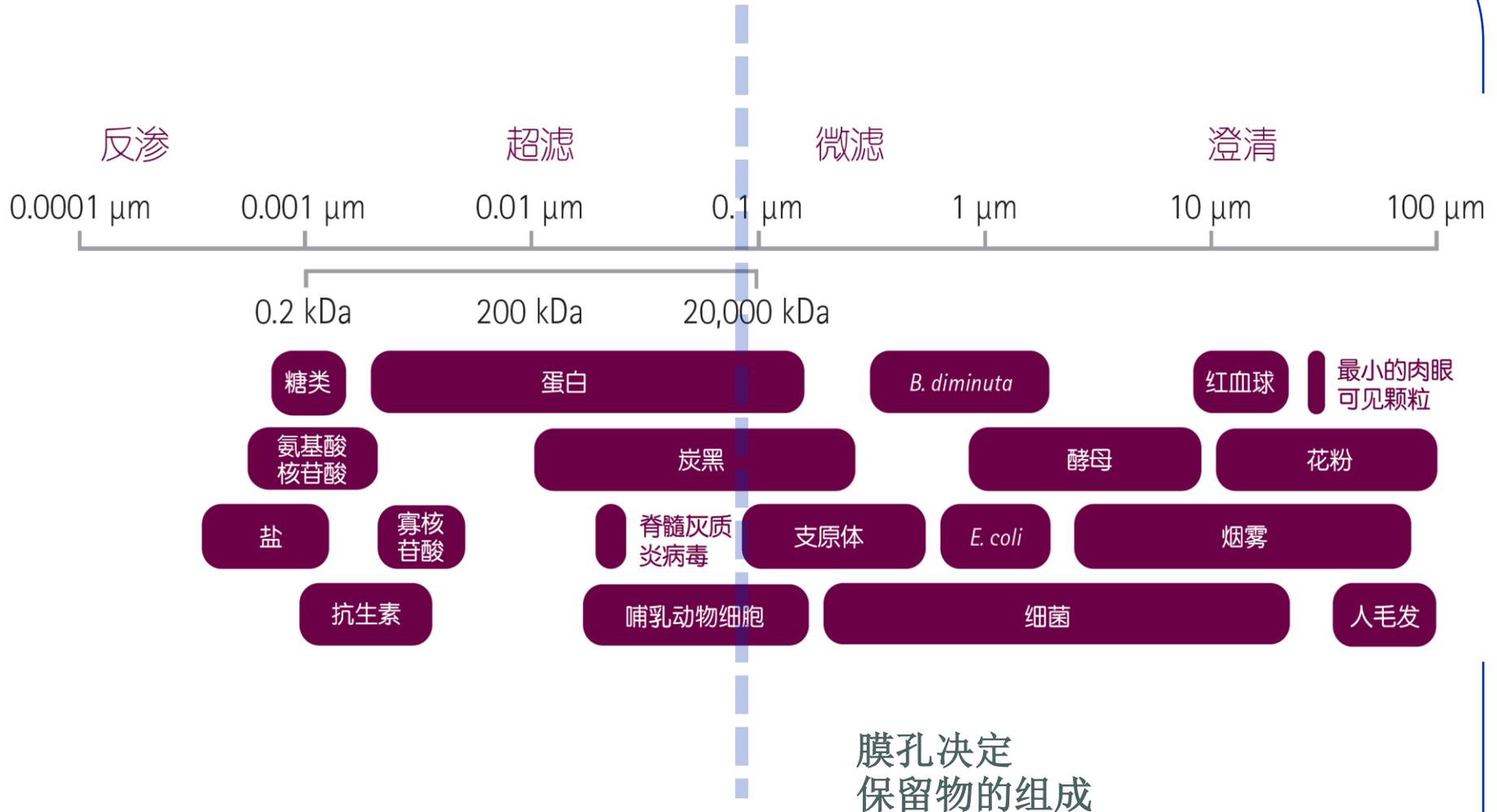
微滤

Millex, Stericup  
MultiScreen

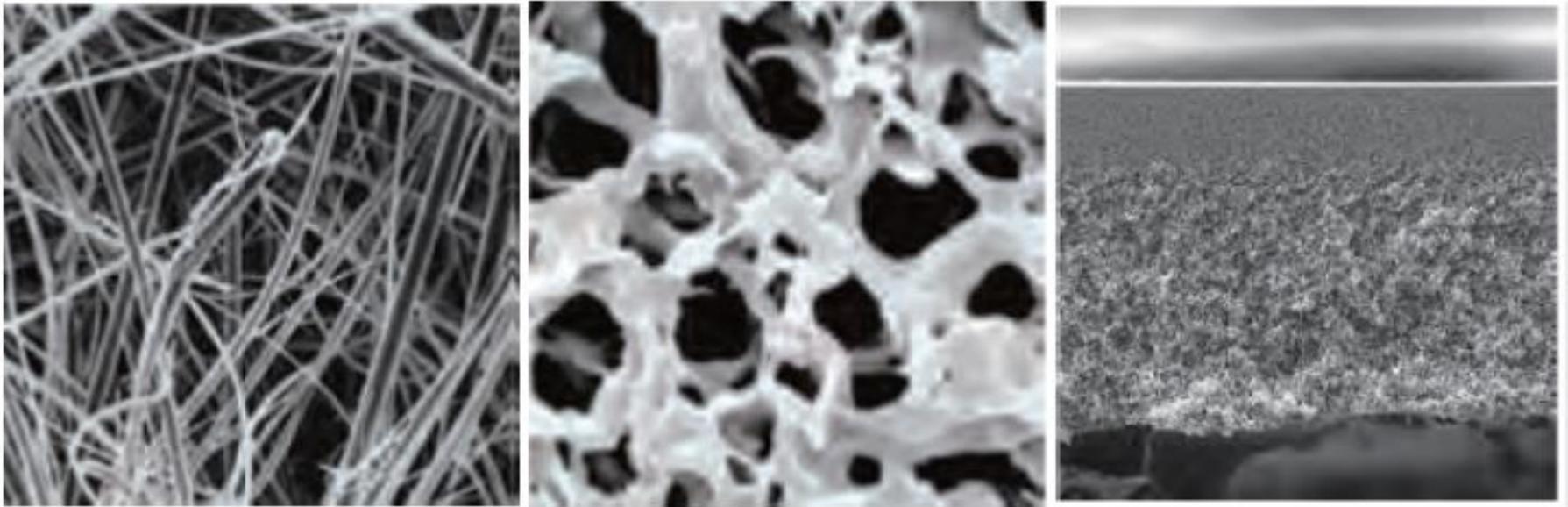
超滤

Amicon Ultra  
MultiScreen

# 生物实验中常见分离物质和膜孔径



# 生物实验中常见分离



从左至右分别为深层过滤、微滤和超滤介质的横截面电镜照片

预过滤

微滤

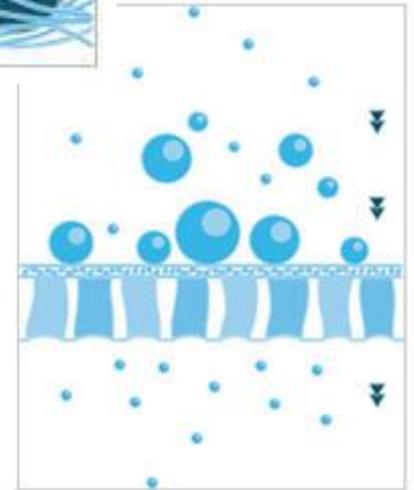
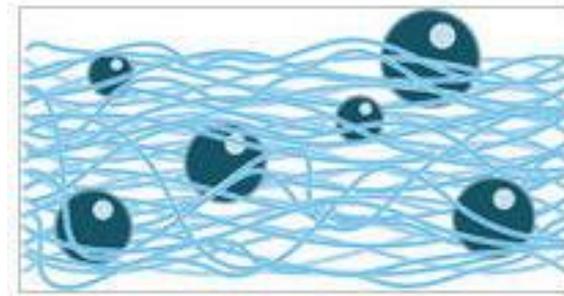
超滤

比较粗放

技术要求更高：精密

# 膜的性质

- ◆ Pore size (孔径)
- ◆ Hydrophilic / Hydrophobic (亲/疏水性)
- ◆ Compatibility (化学相容性)
- ◆ Liquid and Air Flow Rates (流速)
- ◆ Porosity (成孔率)
- ◆ Bubble Point (泡点)
- ◆ Protein Binding (蛋白结合)



# 亲水-疏水-超级疏水

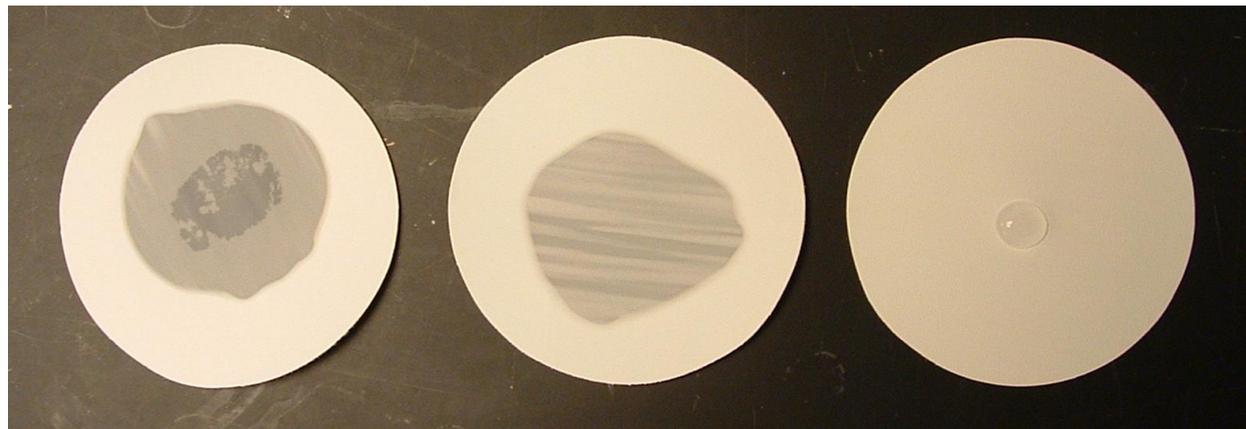
疏水膜一般具有较宽的化学兼容性，可用于有机及气体过滤

0.1  $\mu\text{m}$   
PVDF膜上  
滴水

亲水

疏水

超级疏水



0.1  $\mu\text{m}$   
PVDF膜上滴  
异丙醇

亲水

疏水

超级疏水

核心技术是Millipore的膜——衍生出各种形式的产品



支撑

细胞培养

Millicell  
MultiScreen

Blotting  
PVDF/NC

分离

微滤

Millex, Stericup  
MultiScreen

超滤

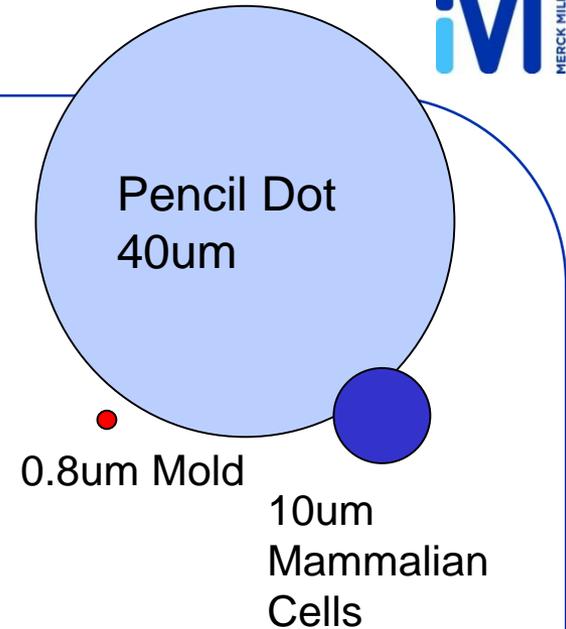
Amicon Ultra  
MultiScreen

## 常用灭菌/除菌技术

处理方法	优点/缺点
蒸汽	有效成分易降解失效
干热	有效成分易降解失效
气体 (ethylene oxide, EtO等)	残余气体的影响
离子射线辐照 (Gamma)	易于控制, 聚合物易降解
紫外线照射	易于控制
膜过滤	快捷、可靠、无破坏性 对于易于损坏的培养基、添加剂、血清、缓冲液等最为适合

# 微滤膜的膜孔径选择原则

- 尽可能大——减少堵塞，增加流速
- 足够的小——有效而可靠地截留住目标颗粒



## F.D.A. Definition:

“A sterilizing filter is one which, when challenged with the Microorganism *B. diminuta*, at a minimum concentration of  $10^7$  organisms per  $\text{cm}^2$  of filter surface, will produce a sterile effluent.”

Pore Size	Common Particles Removed
0.1 $\mu\text{m}$	Mycoplasma, large viruses
0.22 $\mu\text{m}$	USP Sterility certified for bacterial removal ( <i>B. diminuta</i> )
0.45 $\mu\text{m}$	Bacteria ( <i>E.coli</i> , <i>S. aureus</i> , etc)
0.8 $\mu\text{m}$	Molds, yeast
1.0 $\mu\text{m}$	Beads, small mammalian cells
3-5 $\mu\text{m}$	Blood cells, lymphocytes, radioactive particles in air
5-10 $\mu\text{m}$	Mammalian cells
10-40 $\mu\text{m}$	Machined parts contaminants
40-60 $\mu\text{m}$	Tissue, cell aggregates, precipitates
60-180 $\mu\text{m}$	Whole organisms (parasites)

微滤膜孔径范围：0.025  $\mu\text{m}$ ~12  $\mu\text{m}$

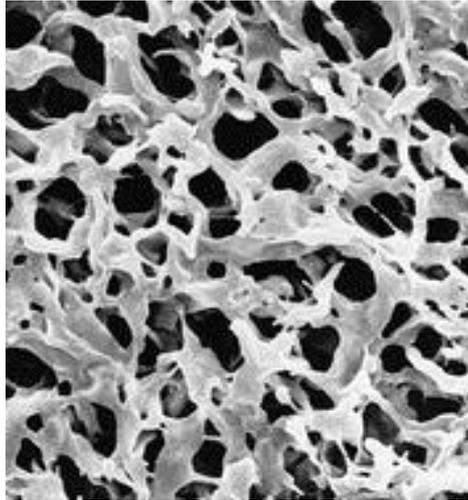
# 如何选择过滤膜及产品

1. 过滤的目的（澄清,灭菌,颗粒分析?）
  - 决定**孔径**以及是否需要与过滤
2. 化学相容性（需要过滤什么样的样本?）
  - 初步确定**膜的材质**和过滤器的类型
3. 需要过滤的体积?
  - 决定**膜的直径**和进一步确定需要的过滤器
4. 其他要求(温度, 蛋白结合率?)
  - 进一步确定**膜的材质并最终确定膜的选择**
5. 样品数量?
6. 一次性或持续使用的产品形式? 已有的动力设备

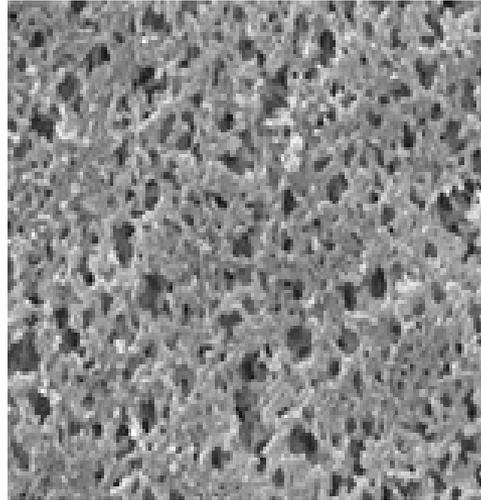


# 不同的膜即使标称孔径相同，使用效果也会有较大的不同

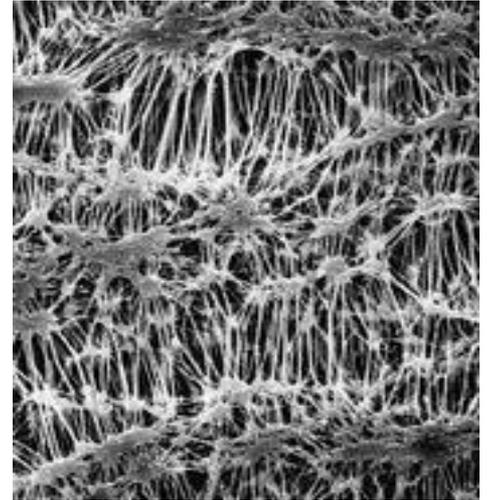
三种膜的孔径全部为0.45 μm



PVDF



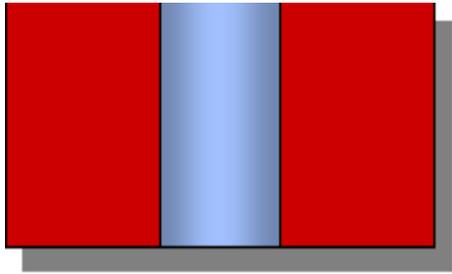
Nylon



PTFE

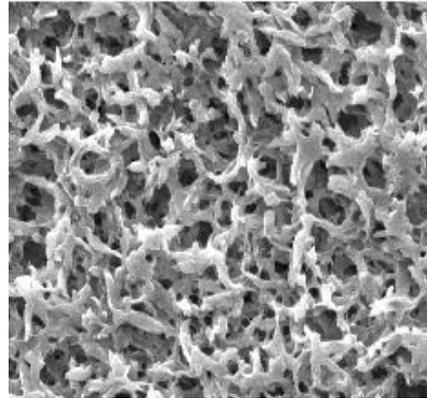
成孔率%	70%	75%	80%
水的流速 (mL/min/cm <sup>2</sup> )	29	75	70

# 膜孔结构的特别设计/生产工艺

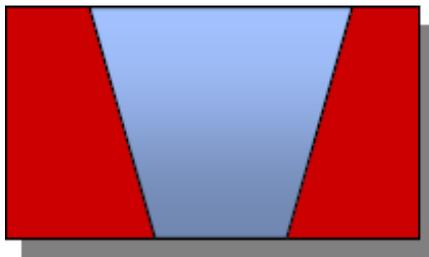
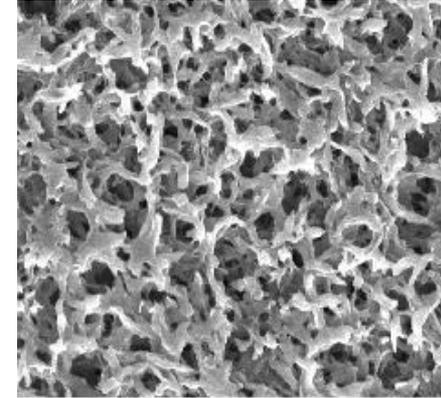


Symmetric  
Durapore® PVDF

Top

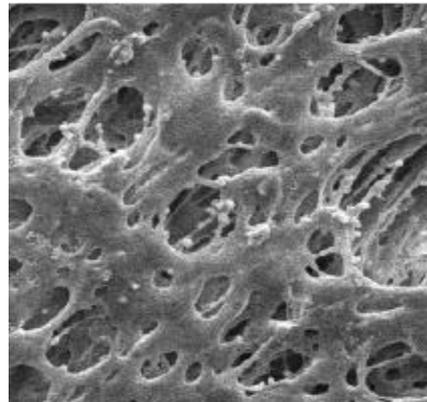


Bottom

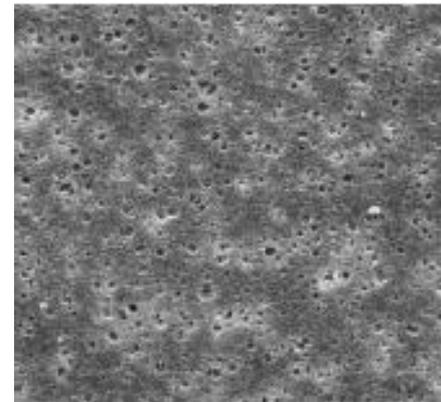


Asymmetric  
Express Plus® PES

Top

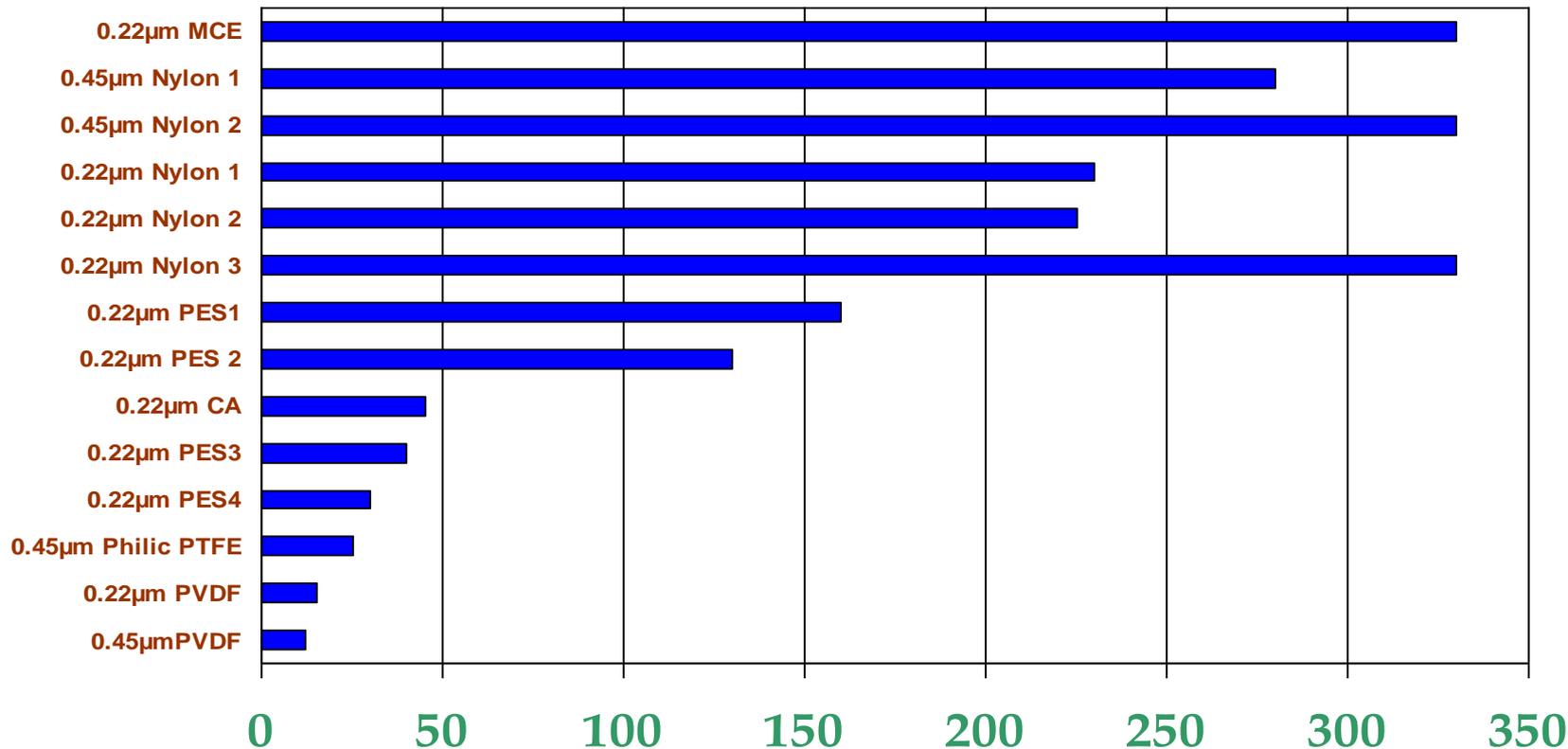


Bottom



# 相对蛋白结合率比较

Relative binding of IgG ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) to 0.22 $\mu\text{m}$  and 0.45 $\mu\text{m}$  membranes



WB  
转印膜

亲水性PVDF拥有最低的蛋白结合率。  
疏水性PVDF拥有高的蛋白结合率

过滤

# 微滤膜

- **Express PLUS PES:** 流速快，低蛋白吸附  
常见水溶液、培养基过滤
- **Millipore-MF MCE:** 生物学惰性  
非常常用——细胞上清处理
- **Durapore PVDF(疏水):** 蛋白吸附最低  
富含蛋白的溶液，抗体溶液
- 还有尼龙膜，PTFE膜，再生纤维素膜



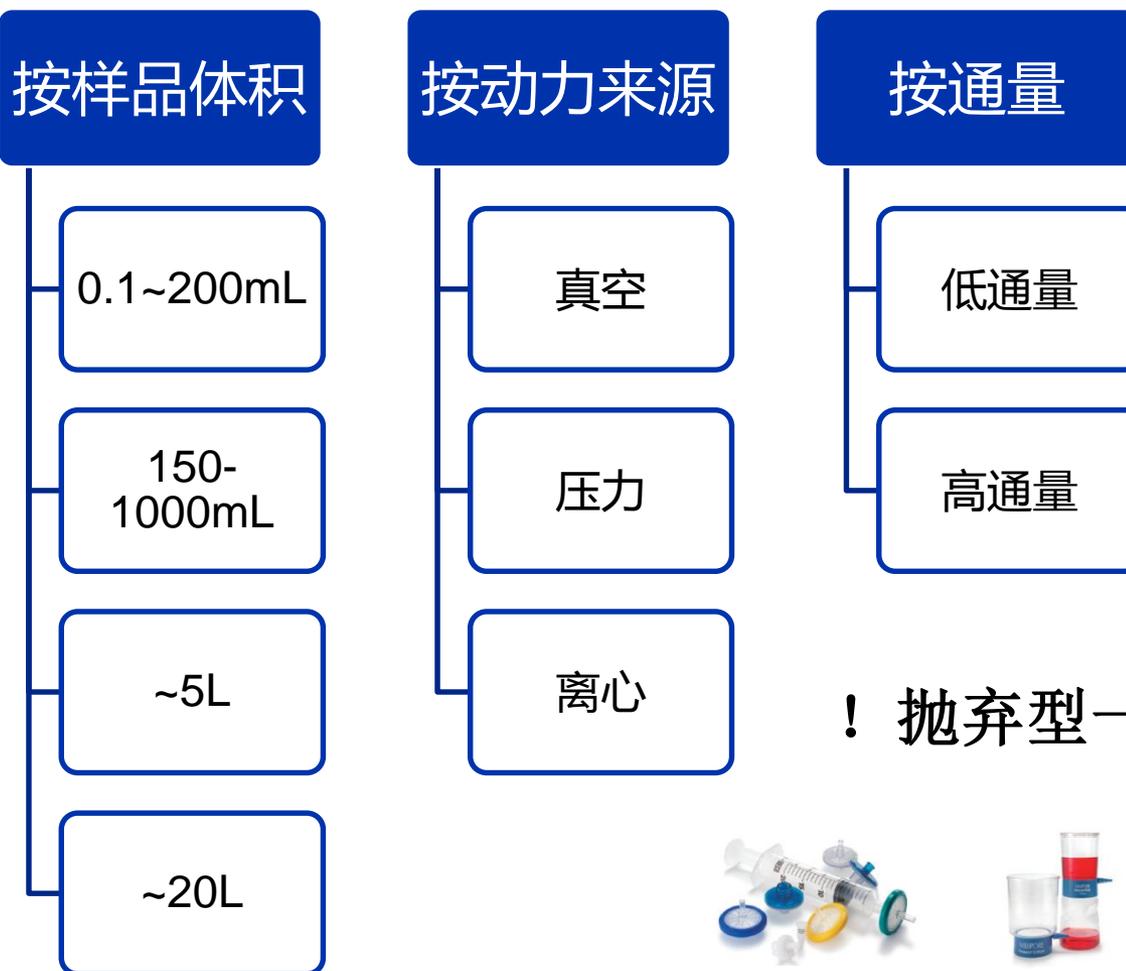
## 通气及气体过滤

气体的过滤除菌，超净工作台通气，在线真空泵保护，传感器保护

膜的种类	膜孔径 (μm)	直径 (mm)	外壳材质, 除菌方法	进样接头	输出接头		
<b>PVDF Durapel™</b> 最好的疏水膜 推荐用于传感器保护	0.22 μm	25 mm	PVC, EO	FLL	MLS		
					MLL		
					Spike		
<b>PTFE Fluoropore™</b> 疏水，良好的化学兼容性 推荐用于气体过滤	0.20 μm	25 mm	PVC, EO	FLL	MLS		
					MLL		
					Needle		
					MLS		
					SHB		
	0.20 μm	50 mm	PP, Autoclavable	FLL	SHB	1/8 in. NPTM	
						SHB (latex)	1/8 in. NPTM
						1/8 in. NPTM	1/8 in. NPTM
						SHB (silicone)	SHB (silicone)
						SHB	SHB
0.45 μm	50 mm	PP, Autoclavable	SHB	SHB	SHB		
1.0 μm	50 mm	PP, Autoclavable	SHB	SHB	SHB		



# 微滤：澄清，除细胞/碎片，除细菌/支原体等



**！抛弃型一次性使用产品**



Millex®针头式过滤器  
~200mL



Stericup®过滤器  
~1000mL



Sterivex®过滤器  
~2L



Steripak®过滤器  
~20L

# 根据要过滤的样品的体积选择合适的一次性除菌过滤装置

## Media volume

1 mL

10 mL

50 mL

100-200 mL

150 mL-1L

2-10 L



Steriflip® filter



Stericup® & Steritop® filters



Stericap® PLUS and Sterivac® filters



真空

## Media volume

1 mL

10 mL

50 mL

100-200 mL

<2 L

2-20 L



4 mm Millex® filter



13 mm Millex® filter



25 mm Millex® filter



33 mm Millex® filter



Sterivex® filter



Steripak® filter



压力

# 无菌Millex针头式滤器的选择

## 4种膜根据不同需要选择:

- Millipore Express PLUS (**PES**)
- Durapore (**PVDF**)
- Millipore-MF (MCE)
- Fluoropore (hydrophobic PTFE)

## 5种孔径（无菌包装）

- 0.10  $\mu\text{m}$
- **0.22  $\mu\text{m}$**
- **0.45  $\mu\text{m}$**
- 0.80  $\mu\text{m}$
- 5.00  $\mu\text{m}$

## 4种直径用于不同操作体积:

- 4 mm
- 13 mm
- 25 mm
- **33 mm**
- 50 mm

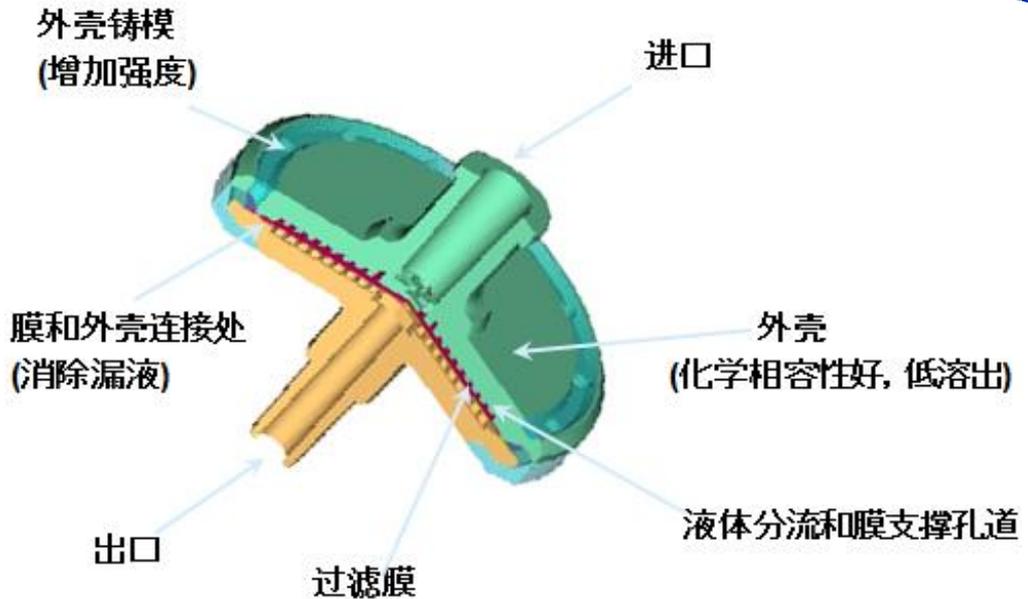
## 不同包装量的选择:

- 50pk
- 100pk
- **250pk**
- 1000pk

全部为单个无  
菌包装形式



# Millex 33 特点



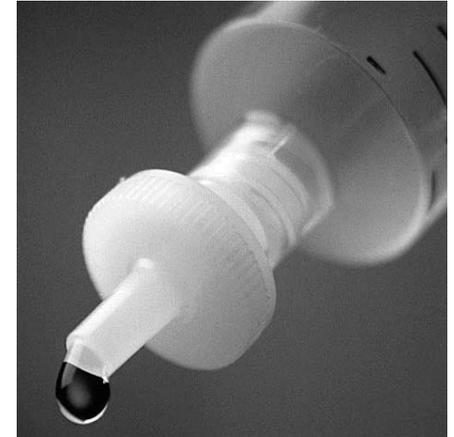
- **Over-Molding技术**: 一体成型，采用颜色区别不同膜材质
- **直径增加**: 增加**20%**有效过滤面积，更快流速，更高通量
- **截留体积减少**: 降低至**80 μl**，比**25mm**小**20%**；减少珍贵样本损失
- **全自动生成过程**: 高度洁净，品质保证
- **专利塑封技术使耐压能力提升至10bar** (传统: **5bar, 75psi**)
- **聚丙烯外壳(Polypropylene)**: 低溶出

## 4 mm Millex



- $\leq 1$  mL 样品
- 截留  $\sim 10\mu\text{l}$
- 耐压性好  
(1 cc 和 3 cc 注射器)

## 13 mm Millex



- $\leq 10$  mL 样品
- 截留  $< 25\mu\text{l}$

## 25 mm Millex



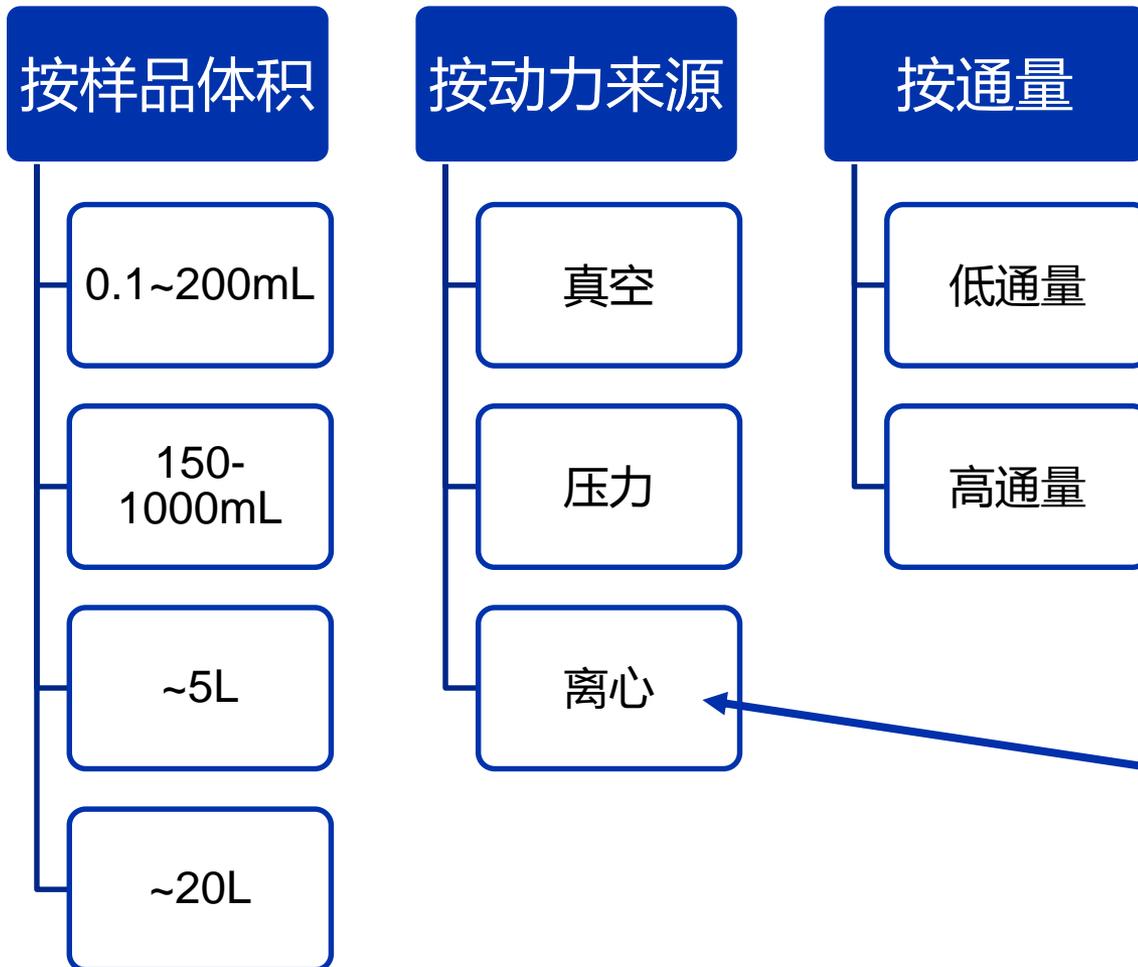
- $\leq 100$  mL 样品
- 截留  $< 100\mu\text{l}$
- 适合诊断和临床应用
- 多种入口和出口设计

## 50 mm Millex



- $\leq 4$  L 样品
- 截留  $< 1\text{mL}$

# 微滤：澄清，除细胞/碎片，除细菌等



# 常用无菌过滤产品选择指南

## 2014 Calendar

January	February	March
S M T W T F S	S M T W T F S	S M T W T F S
1 2 3 4	1	1
5 6 7 8 9 10 11	2 3 4 5 6 7 8	2 3 4 5 6 7 8
12 13 14 15 16 17 18	9 10 11 12 13 14 15	9 10 11 12 13 14 15
16 17 18 19 20 21 22	16 17 18 19 20 21 22	16 17 18 19 20 21 22
23 24 25 26 27 28 29	23 24 25 26 27 28 29	23 24 25 26 27 28 29
	30 31	30 31
April	May	June
S M T W T F S	S M T W T F S	S M T W T F S
1 2 3 4 5	1 2 3	1 2 3 4 5 6 7
8 7 6 5 4 3 2 1	4 5 6 7 8 9 10	8 9 10 11 12 13 14
13 14 15 16 17 18 19	11 12 13 14 15 16 17	15 16 17 18 19 20 21
20 21 22 23 24 25 26	18 19 20 21 22 23 24	22 23 24 25 26 27 28
27 28 29 30	25 26 27 28 29 30	
July	August	September
S M T W T F S	S M T W T F S	S M T W T F S
1 2 3 4 5	1 2 3	1 2 3 4 5 6
8 7 6 5 4 3 2 1	4 5 6 7 8 9 10	8 9 10 11 12 13 14
13 14 15 16 17 18 19	11 12 13 14 15 16 17	15 16 17 18 19 20 21
20 21 22 23 24 25 26	18 19 20 21 22 23 24	22 23 24 25 26 27 28
27 28 29 30 31	25 26 27 28 29 30 31	29 30 31
	31	
October	November	December
S M T W T F S	S M T W T F S	S M T W T F S
1 2 3 4	1	1 2 3 4 5 6
8 7 6 5 4 3 2 1	2 3 4 5 6 7 8	8 9 10 11 12 13 14
13 14 15 16 17 18 19	9 10 11 12 13 14 15 16	16 17 18 19 20 21 22
20 21 22 23 24 25 26	18 19 20 21 22 23 24 25	21 22 23 24 25 26 27
27 28 29 30 31	26 27 28 29 30 31	28 29 30 31

## Millex® 针头式过滤器

来自默克密理博，品质保证，值得您的信赖

**在科学研究中的应用**  
细胞培养基以及添加精冲液(CASO)生物有效成分溶液的制备

膜孔径 (微米)	直径 (mm)	膜材质	针头直径 (微米)	针头长度 (mm)	针头材料	包装数量	货号
0.2 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
0.22 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
0.45 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
0.8 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
1.2 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
2.0 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
3.0 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
5.0 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
10 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
20 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
30 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
50 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
100 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
200 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
500 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
1 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
5 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf
10 µm	19 mm	100 µm (100 µm)	Mylar Acrylic, PS	50	PS	100 ultraf	100 ultraf

### Millex® 针头式过滤器 少量无菌过滤的金标准

- 30µm Millex Filter 0.4, 1.2, 2.0, 3.0, 5.0, 10µm 膜提供高流速
  - 高流速过滤器，特别适用于细胞培养基
  - 优化的膜材料，保证最少材料浪费
- 膜材料选择，避免堵塞**  
各种膜材料中材料膜厚度不同，膜厚度不同流速也不同
- 更快流速**  
30µm Millex 过滤器膜厚度 0.2µm 膜厚度，膜厚度不同流速也不同
- 膜材料选择**  
专用膜 30µm Millex 过滤器膜厚度加大，膜厚度不同流速也不同
- 膜材料选择**  
30µm Millex 过滤器膜厚度 0.2µm 膜厚度，膜厚度不同流速也不同

**通气及气体过滤**  
气体的过滤除菌，防止工作通气，会经真空保护，传感器保护

膜孔径 (µm)	直径 (mm)	膜材质	针头直径 (µm)	针头长度 (mm)	针头材料	包装数量	货号
0.2 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
0.22 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
0.45 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
0.8 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
1.2 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
2.0 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
3.0 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
5.0 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
10 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
20 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
30 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
50 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
100 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
200 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
500 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
1 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
5 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf
10 µm	19 mm	PVC, PD	50	50	MIL	100 ultraf	100 ultraf

产品图片	产品名称	最大处理体积
	0.2 µm 针头式过滤器	50 mL
	0.22 µm 针头式过滤器	100 mL
	0.45 µm 针头式过滤器	200 mL
	0.8 µm 针头式过滤器	400 mL
	1.2 µm 针头式过滤器	800 mL
	2.0 µm 针头式过滤器	1600 mL
	3.0 µm 针头式过滤器	3200 mL
	5.0 µm 针头式过滤器	6400 mL
	10 µm 针头式过滤器	12800 mL
	20 µm 针头式过滤器	25600 mL
	30 µm 针头式过滤器	38400 mL
	50 µm 针头式过滤器	61440 mL
	100 µm 针头式过滤器	122880 mL
	200 µm 针头式过滤器	245760 mL
	500 µm 针头式过滤器	614400 mL
	1 µm 针头式过滤器	1228800 mL
	5 µm 针头式过滤器	6144000 mL
	10 µm 针头式过滤器	12288000 mL

Merck Millipore is a division of MERCK

了解更多 Millex 详细情况，请访问：[www.millipore.com/millex](http://www.millipore.com/millex)

生命科学部技术咨询专线 400-898-1199



# Stericup & Steritop 过滤装置

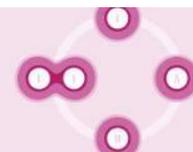
150 ml, 250 ml, 500 ml and 1 liter

- 专利设计，易于紧握
- 外形紧凑，提高了过滤过程中的稳定性
- 底部稍稍内凹，方便储存是将带盖的瓶叠加堆积
- 兼容AP20玻璃纤维圆片预过滤膜 (AP2007500)
- 装有不同种类膜和孔径可供选择：
  - 0.1um and 0.22um Express PLUS
  - 0.22um and 0.45um Durapore



- 0.22 um PES Stericup/ Steritop are Stem Cell Test

Stem Cell  
Tested Products

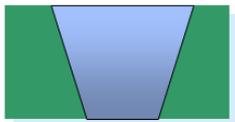


- Steritop 瓶顶式真空抽滤装置：配用标准玻璃收  
(瓶颈口为33mm或45mm)



# Stericup/Steritop过滤装置

## Express® PLUS



### – PES膜 (Polyethersulfone聚醚砜)

- 流速最快，蛋白结合低
- Express® PLUS 是第三代PES膜
- 比MM以前产品快25%
- 比其它品牌产品快50%以上
- 支原体 VP 0.1 $\mu$ m
- 细菌 GP 0.22 $\mu$ m (经干细胞培养验证)
- 颗粒物 HP 0.45 $\mu$ m

## Durapore® - PVDF

### – Durapore® - PVDF MM首创

- 最低蛋白吸附，流速快
- 水溶液和生物样品
- 细菌 GV 0.22 $\mu$ m
- 颗粒物 HV 0.45 $\mu$ m



**150 ml, 250 ml, 500 ml 和 1 L**  
**Steritop 瓶顶式真空抽滤装置：**  
 配用标准玻璃收集瓶  
 (瓶颈口为33mm或45mm)

## Steriflip

- 真空抽滤10-50 mL
- 多种膜及孔径选择



## Sterivex

- 体积小而过滤体积大，100 mL-2 L
- 动力源：注射器、蠕动泵、压力罐
- 多种膜及孔径选择



## Stericap

- 真空抽滤，~10 L
- 配合各种接受瓶

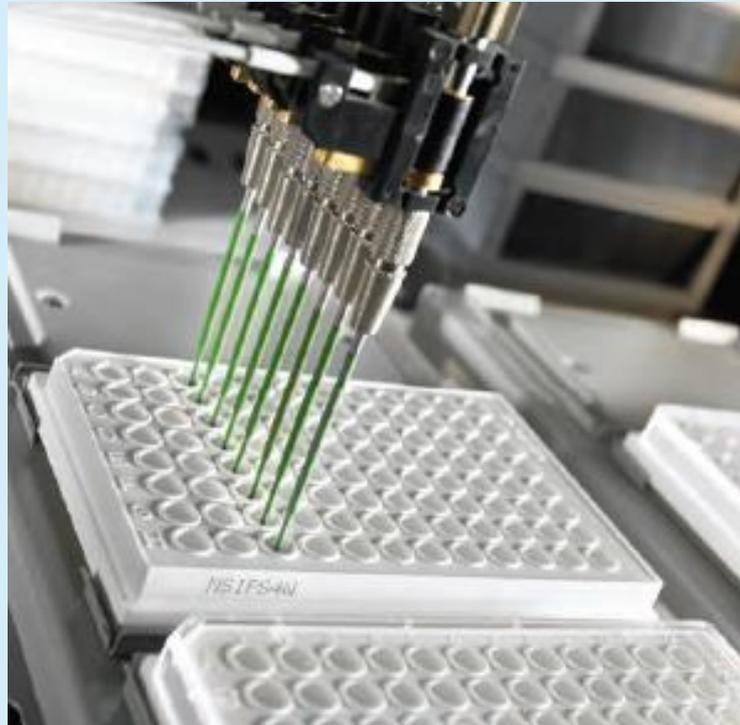


## Steripak

- 实验室里最大的过滤器
- 升级PES膜，流速快
- 压力驱动，10 L和20 L



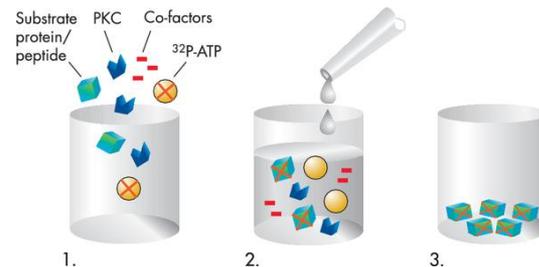
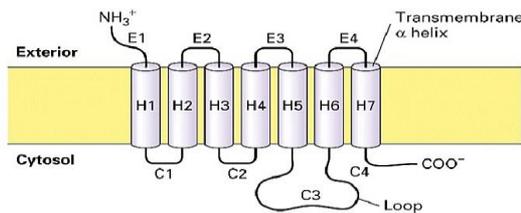
# MultiScreen® 板子



# Multiscreen 多孔滤模板应用举例

## Binding assays 结合实验

- Receptor Ligand Binding (RLB): Glass FC or B
- Kinase: Glass or P-81



## Immunoassays 免疫分析

- Luminex Beads (BV or HV)
- ELISPOT



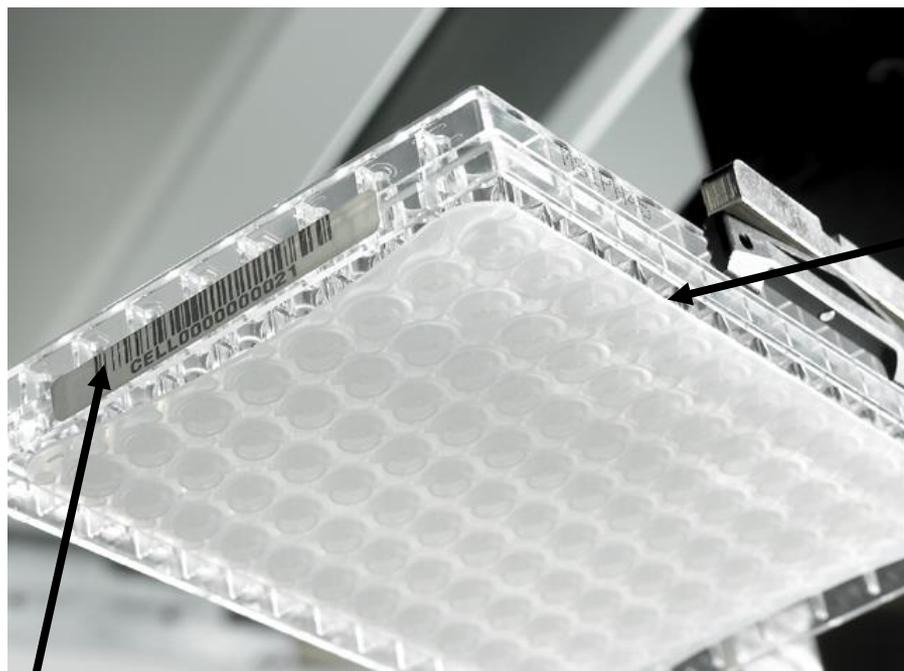
## Sample Preparation 样本制备

- Neonatal Screening (HV) 新生儿筛查
- Genomics (PCR/ Seq /Dye Terminator Removal)
- Solvinert
- 96 Well Chromatography
- Nylon Mesh



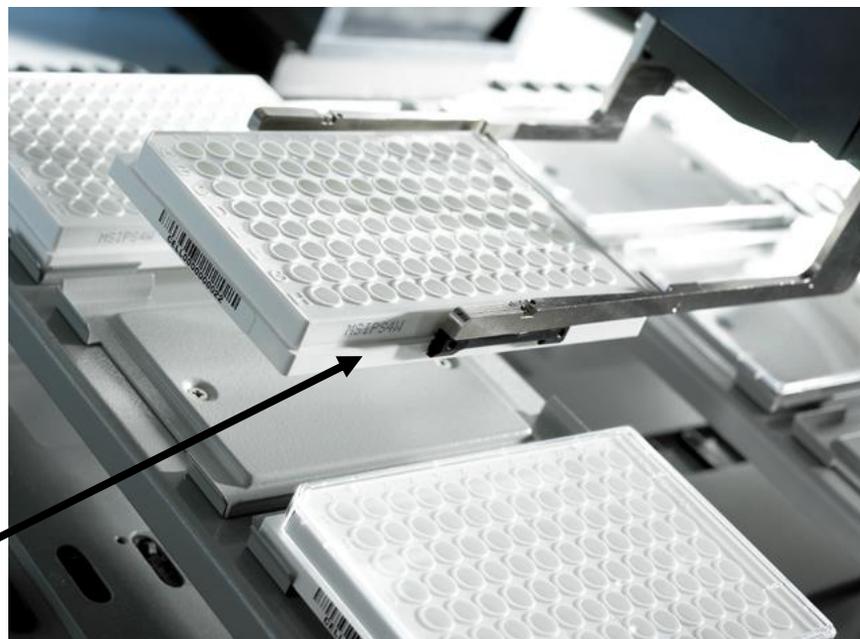
# MultiScreen HTS 96/384-Well Filter Plates

适合ANSI/SBS标准，高通量操作的基础



条形码标签  
下面接标准接收板

滤膜种类和孔径多种选择  
可移除导液槽，有效防止交叉污染



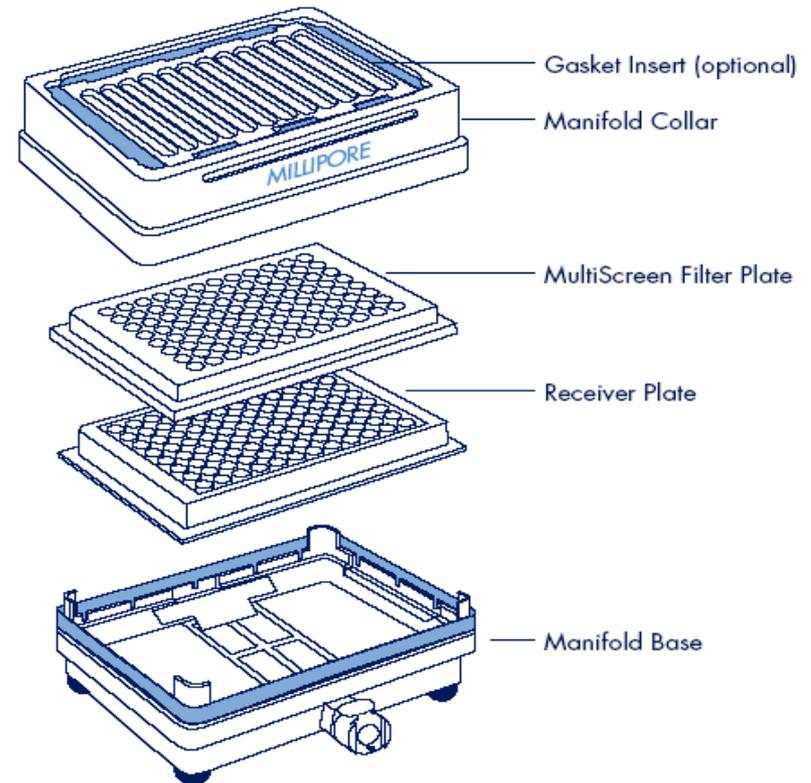
坚硬结实的边框易于被机械手抓取

# MultiScreen Assay System

- 96 或 384孔板
- 20多种产品
- 低/高蛋白结合
- 低/高DNA结合
- 膜品种多
- 化学兼容性好
- 塑料材质品种不同
- 白色易于化学发光法检测

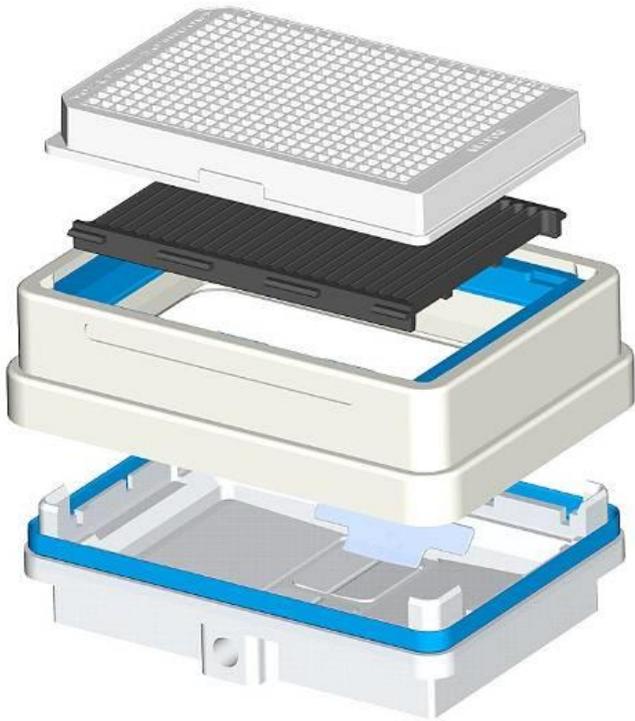


# The MultiScreen HTS Manifold = Key Accessory for Multiscreen Plates



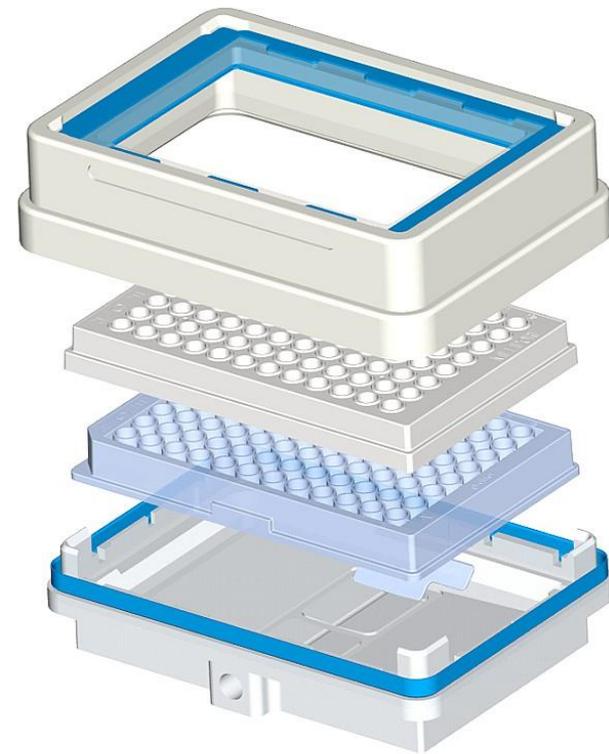
## 滤过物废弃

### MultiScreen<sub>HTS</sub> 384孔板



## 分析膜上样品

### MultiScreen<sub>HTS</sub> 96孔滤板和接收板



# ELISPOT

## Enzyme-linked Immunospot Assay

### 酶联免疫斑点法

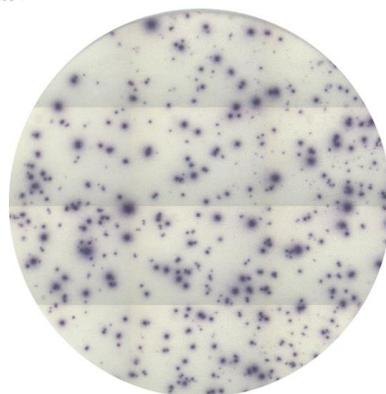
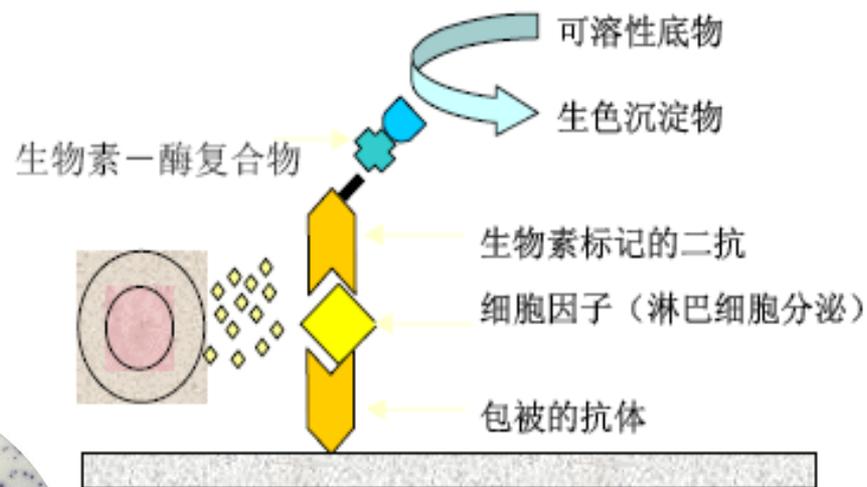
- 在单细胞水平检测分泌某种特定蛋白的细胞和定量分析产生该蛋白的细胞频率
- 应用领域  
在抗肿瘤免疫及相关领域中的应用  
抗感染免疫中的应用（HIV患者特异性细胞毒性T细胞功能）  
细胞因子检测技术的临床应用（肺结核检测）
- 技术特点  
灵敏度高（1:100万细胞精度）  
样本量少  
淋巴细胞在ELISPOT后依然存活，能继续增殖

<http://ask.bbiox.com/special/experiment/ELISPOT.htm>

# ELISPOT protocol



1. 用抗体包被滤膜，添加免疫细胞并进行培养。
2. 反应细胞产生细胞因子。
3. 洗去细胞，添加生物素标记抗体。
4. 添加亲和素-酶复合物。
5. 每一个反应细胞产生一个斑点。



MultiScreen Well 中的HA or IP膜

# Neonatal Screening(新生儿筛查)



MultiScreen-HV plates are a high throughput method for reproducibly preparing newborn blood samples for PKU(苯丙酮尿症) screening

**A published study showed that MultiScreen plates improve sample preparation efficiency by almost 2x.**

*Screening 3 (1995) 209–223*

- Approximately 1 out of every 16,000 babies is born with phenylketonuria (PKU)
- PKU is an inherited disease caused by the absence of an enzyme for the amino acid phenylalanine
- If not treated, PKU can lead to severe mental retardation and brain damage
- MAHV plates (.45um)



# MultiScreen PCR<sub>μ96</sub> Plates

1. Optimized purification of PCR reaction volumes less than 150 μL
2. A one piece, automation compatible
3. **A format enabling smaller resuspension volumes (20μL)**
4. The ability to reduce PCR reagent usage through its micro well design
5. Higher concentration factors (up to 7.5x) than our standard PCR 96 product
6. Greater than 99% primer removal
7. **Better recovery of smaller fragments (137 bp)**

## PCR<sub>96</sub> 96-well Plate



MSNU03010  
MSNU03050

LSKMPCR10  
LSKMPCR50

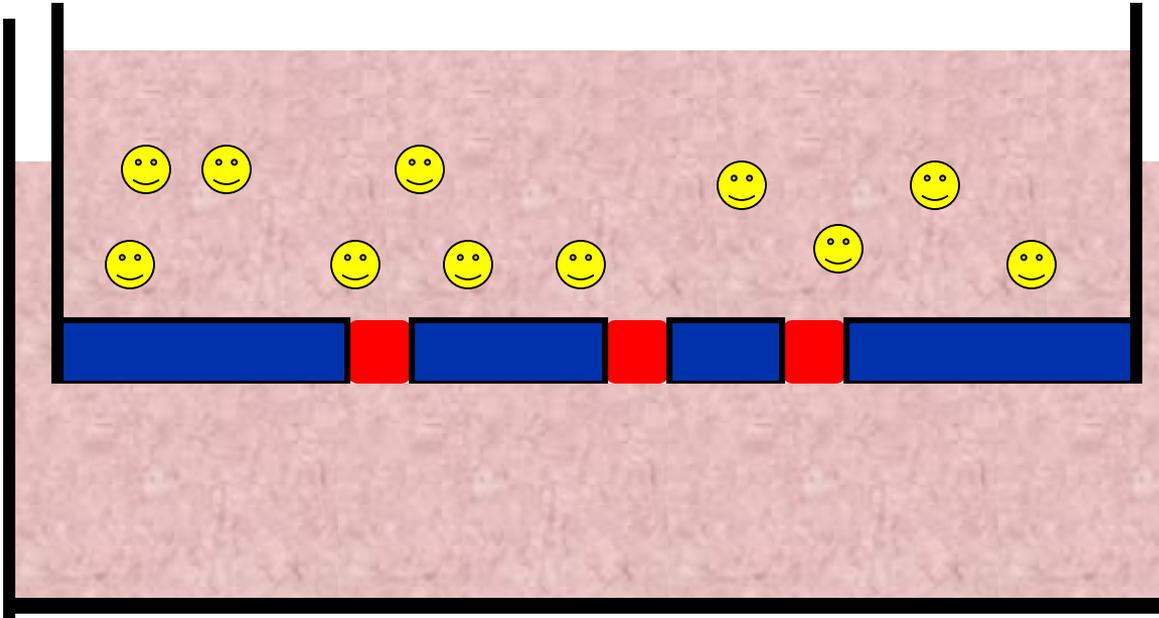


# Standard vs. Micro

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>PCR<sub>μ96</sub></b></li> <li>• (LSKMPCR10 / 50)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Standard PCR<sub>96</sub></b></li> <li>• (MSNU03010 / 50)</li> </ul>
<b>Design</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• One piece design</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-piece / underdrain</li> </ul>
<b>Reaction volume input</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 - 150 μl</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 150 - 300 μl</li> </ul>
<b>Minimum sample recovery volume</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 20 μl</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 50 μl</li> </ul>
<b>Automation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Optimal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Optimal</li> </ul>
<b>Small PCR fragment recovery</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt;80%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &gt;50%</li> </ul>



# PAMPA plate – uses the ‘Classic’ design



Part #'s:  
 Standard  
 No underdrain  
 Disp. Receiver  
 Teflon Receiver

MAIPN4550  
 MAIPNTR10  
 MATRNPS50  
 MSSACCEPT0R

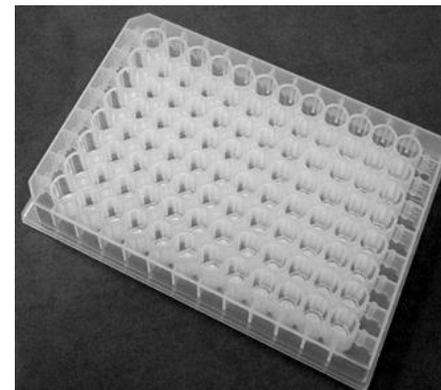
# Solvinert & Deepwell Solvinert Plates

MultiScreen 96-well filter plate for organic solvent compatible sample preparation.

## Featuring:

- Choice of 0.5mL or **1.9 mL** versions
- Hydrophilic and hydrophobic 0.45 $\mu$ m high-throughput **PTFE** membranes
- Hydrophobic with optional pre-filter (Deep well only)
- Patented one-piece automation friendly design,
- Broad solvent compatibility and low extractables
- Currently recommended for use with Affymetrix SNP 6.0 prep kit (MDRLN0410)

Drug Discovery and Development often requires the use of organic solvents, strong acids, and other chemicals not compatible with standard filter plates



# 参考资料



## 默克密理博多孔板应用选择指南

同时提供按用户特别应用而设计的产品定制服务（可根据需要制定膜类别、孔径、边框材质及包装等）

免费索取  
详细产品信息及应用数  
据请参考产品手册，索  
取电话：400-898-1199



应用领域	产品描述	目录号	膜材质	推荐应用	膜孔径	无源	产品形式*	
							96	384
<b>样品制备</b>								
高通量酶 反应制备	MultiScreen <sub>96</sub> -HA	MSHAH1050	MCE	高通量结合膜材质，水溶胶过滤	0.45 μm	•		
	MultiScreen <sub>96</sub> -HV	MSHVH1050	Durapore® PVDF (亲水型)	新生儿血清、样品制备、细胞碎片去除、色素	0.45 μm	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -BV	MSBVH1050	Durapore PVDF (亲水型)	样品制备、色素、磁珠或胶粒Luminex® MILLIPLEX® MAP 多因子分析	1.2 μm	•	•	
	MultiScreen Solviter	MSRNH1050	PTFE (亲水型)	有机溶剂及水性溶液样品制备	0.45 μm	•	•	
	MultiScreen Solviter	MSRNH410	PTFE (亲水型) 深孔, 1.9 mL	有机溶剂样品制备, Affymetrix® SNP 6.0 反应制备试剂检测	0.45 μm	•	•	
	MultiScreen Solviter	MSRNH1050	PTFE 疏水型		0.45 μm	•	•	
	MultiScreen Solviter	MSRNH410	PTFE (疏水型) 深孔, 1.9 mL	有机溶剂样品制备	0.45 μm	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -FB	MSFBH1050	玻璃纤维	细胞碎片去除, DNA结合/洗脱	1 μm	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -FC	MSFCH1050	玻璃纤维	细胞碎片去除, 样品纯化	1.2 μm	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -PCF	MSPCF1050	聚醚砜膜	溶解性分析, 实时定量荧光免疫检测试剂, 水性溶液过滤	0.4 μm	•	•	
采用板贴/膜贴 进行结合-分离	MultiScreen-HV	MSHVH1050	Durapore PVDF (亲水型)	未结合剂去除, 装柱, PCR和测序反应物纯化	0.45 μm	•	•	
MultiScreen-BV	MSBVH1050	Durapore PVDF (亲水型)		1.2 μm	•	•		
<b>生物化学分析</b>								
酶分析	MultiScreen <sub>96</sub> -BV	MSBVH1050	Durapore PVDF (亲水型)	酶膜分离/细胞膜片接插器	1.2 μm	•		
	MultiScreen <sub>96</sub> -IP	MSIPH1050	Durapore PVDF (疏水型)	高通量结合膜材质, 酶分离分析, 转录因子结合, DNA结合蛋白, 蛋白相互作用研究	0.45 μm	•		
	MultiScreen-IP	MAIPH80	Durapore PVDF (疏水型), 传质型	DNA结合蛋白分析, 可打孔取膜进行上表面计数	0.45 μm	•		
	MultiScreen <sub>96</sub> -PH	MSPH1050	磺胺衍生素-I	应用多肽药物的酶分析	-	•	•	
	MultiScreen-PH	MAIPH80	磺胺衍生素-I, 传质型	使用多肽药物的酶分析, 可打孔取膜进行上表面计数	-	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -DE	MSDEH1050	DEAE-离子交换色膜(4)	底物酶分析, DNA聚合酶去除	-	•	•	
液体-液体 结合分析	MultiScreen <sub>96</sub> -HV	MSHVH1050	Durapore PVDF (亲水型)	膜柱吸附的酶分析, 用于全组酶转化的酶组分上小核酸的酶分析, TCA沉淀	0.45 μm	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -FB	MSFBH1050	玻璃纤维		1 μm	•	•	
	MultiScreen-GB8	MAGBH80	玻璃纤维, 传质型, 适用于干膜上表面计数		1 μm	•	•	
	MultiScreen <sub>96</sub> -FC	MSFCH1050	玻璃纤维		1.2 μm	•	•	
	MultiScreen-GFC	MAFCB80	玻璃纤维, 传质型, 适用于干膜上表面计数		1.2 μm	•	•	

### 准备·培养·分析

默克密理博细胞培养与研究产品手册  
(2013修订版)

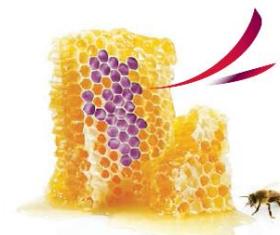


- 细胞培养试剂
- 细胞培养耗材
- 细胞分析平台：仪器与方法

Merck Millipore is a division of MERCK

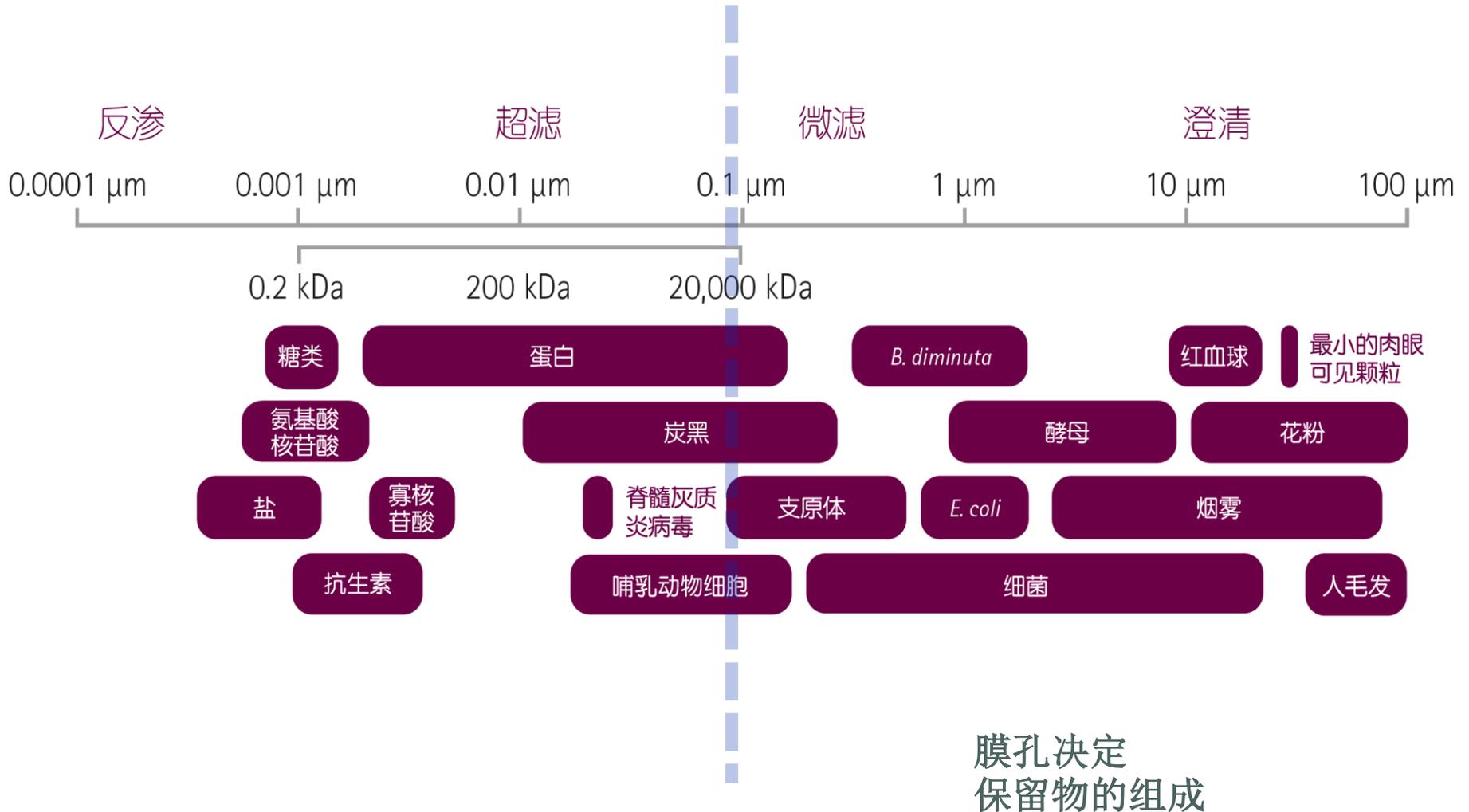


Multiply your success.  
Multiwell solutions for discovery  
research and sample prep.



Merck Millipore is a division of MERCK

# 生物实验中常见分离物质和膜孔径



核心技术是Millipore的膜——衍生出各种形式的产品



支撑

细胞培养

Millicell  
MultiScreen

Blotting  
PVDF/NC

分离

微滤

Millex, Stericup  
MultiScreen

超滤

Amicon Ultra  
MultiScreen

# 超滤的主要用途

## 大分子/纳米材料

(DNA, RNA, 蛋白质, 病毒, 多糖)

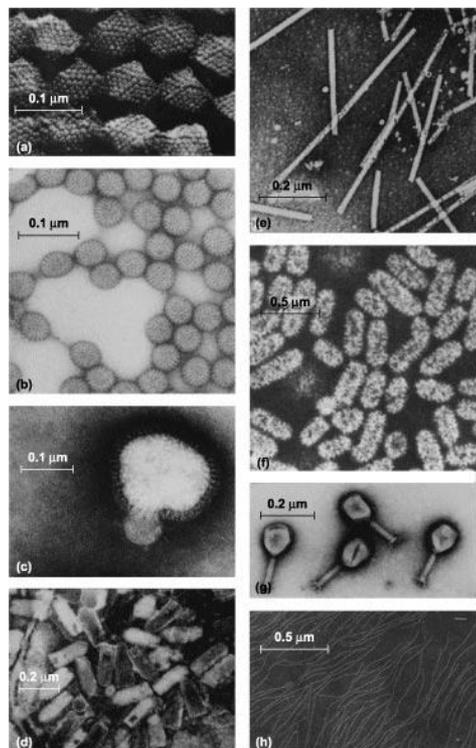
- 与其它物质分开
- 浓缩, 除盐, 缓冲液置换

PCR, RT-PCR, 测序, 芯片,  
病毒制备, 噬菌体制备

最新应用: 重要信号通路研究对象外泌小体  
(Exosome, 30-150nm) 的制备方法

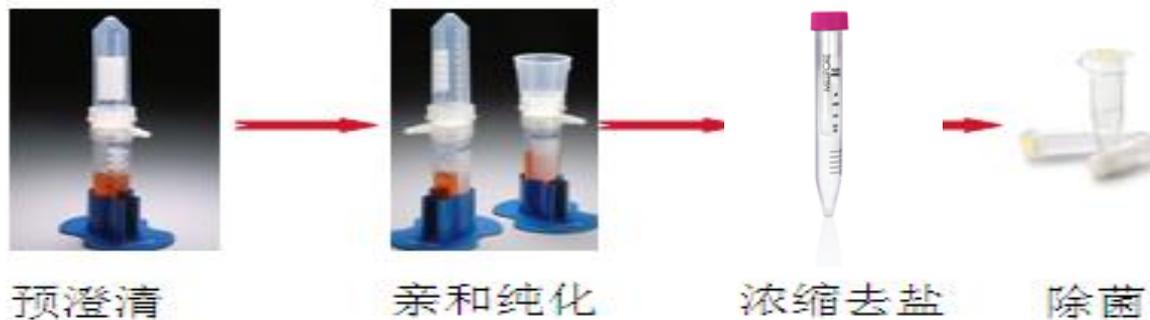


# 超滤在病毒研究中的应用



慢病毒和腺病毒作为经典病毒载体，用于基因修饰，RNA干扰，基因治疗以及疫苗生产等研究。

超滤浓缩是获取高滴度病毒快速有效方法。



各式各样的病毒

FTAV00003腺病毒纯化及浓缩试剂盒

FTLV00003慢病毒纯化及浓缩试剂盒

# 超滤应用实例：噬菌体的浓缩



传统噬菌体浓缩方法：> 12–16 hours

**超滤可替代传统方法，获得高滴度噬菌体颗粒**

噬菌体Phi-6 的浓缩方法：

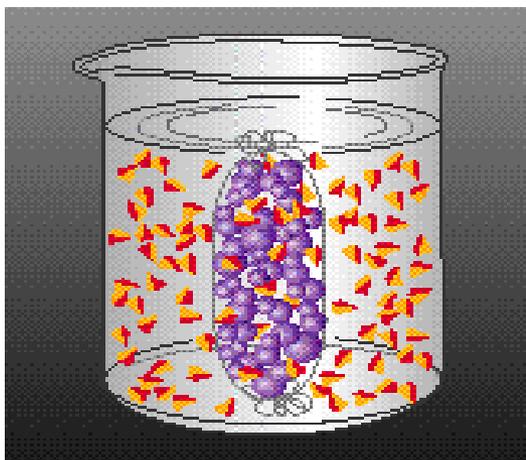
1. 澄清 phi-6 收集液：
2. 使用0.22  $\mu\text{m}$  低吸附 PES膜的Stericup，Steriflip 或 Millex-GP 过滤装置过滤
3. 澄清液加入50K NMWL Amicon Ultra-4、-15 中
4. 1500  $\times$  g 离心 15 分钟，即可收集截留液

➤ **噬菌体滴度被提高30倍**

# 几种蛋白质样品浓缩方法的比较

## 透析

dialysis

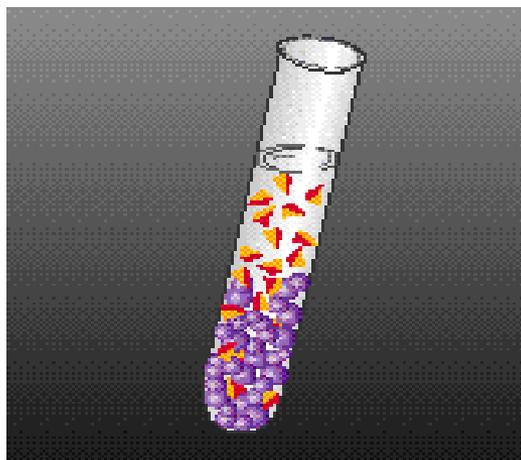


- 过程缓慢，得率低，用于缓冲液置换和复性
- 可置于高分子**PEG**中完成样品浓缩操作
- 需要大体积溶液，不便于多种样品同时处理

## 化学试剂沉淀

(如硫酸铵)

chemical precipitation  
(ammonium sulfate)



- 是一种相变，易于导致蛋白等样品变性、失活
- 引入高盐，需要进一步除盐操作

## 冻干

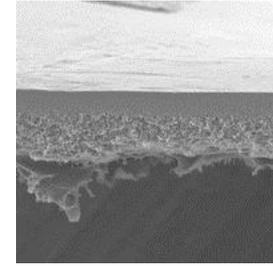
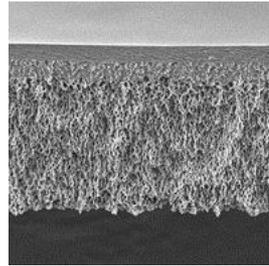
freeze-drying



- 过程缓慢，盐没有在冻干时被去除
- 样品量大时需要数天方能完成
- 设备昂贵，不适合高通量处理

# 超滤膜的性能比较

公认的最好的超滤膜  
**Amicon Ultra**



参数	Ultracel 再生纤维素	Biomax 改良聚醚砜
流速	中等	快
截留能力	最高	中
蛋白吸附	非常低	低
温度	4-50° C	4-50° C
化学兼容性	好	一般
pH范围 (25°C)	2-13	1-14
推荐应用	低浓度样品	高浓度样品

孔径选择 (kDa)

**1/2 原则**

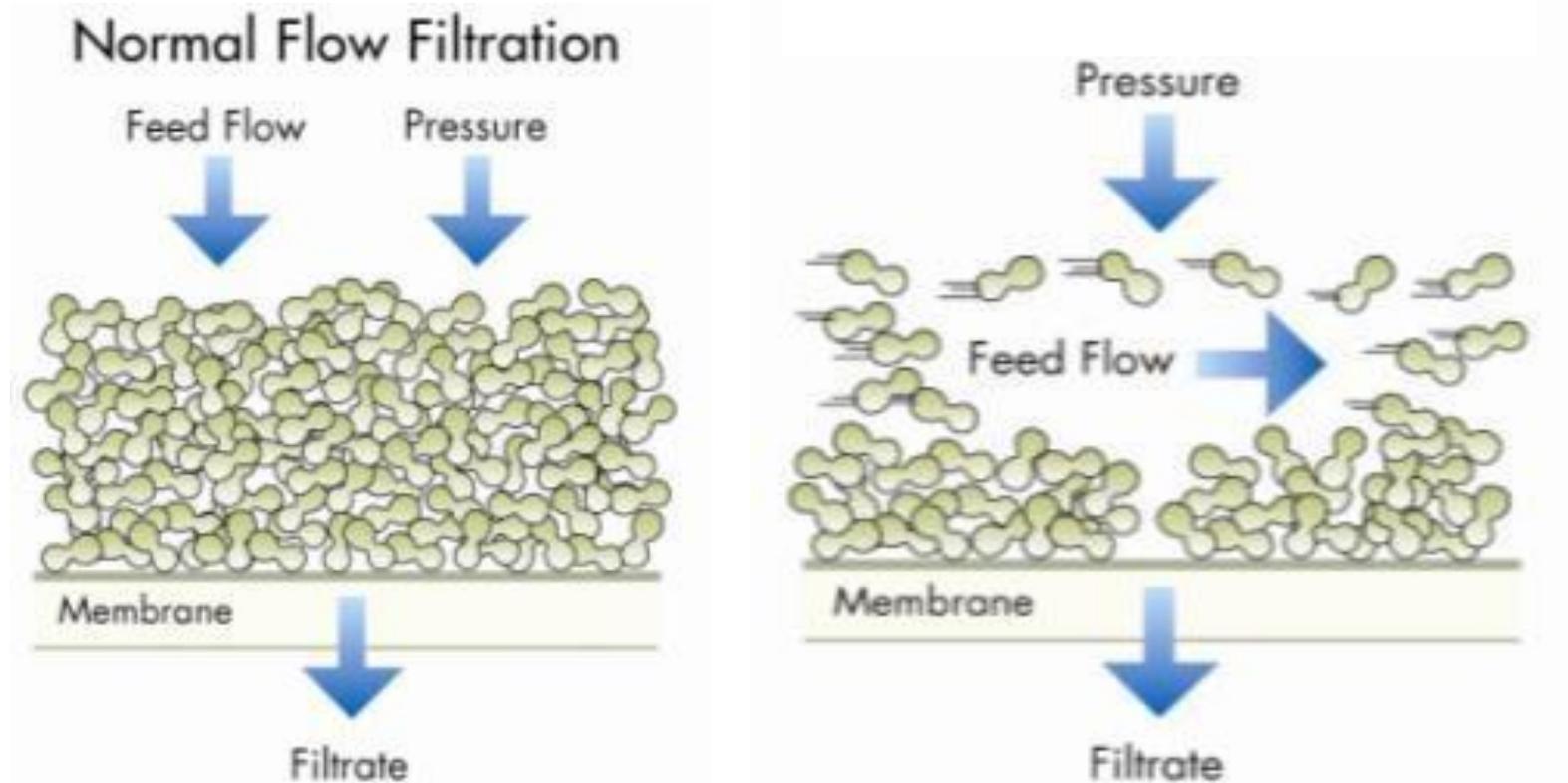
**1/3~ 1/6 原则**

- 截留分子量意指截留至少**90%** 以上的这个大小的球形分子，为保险起见，通常选择比目的蛋白小的NMWL/MWCO的膜
- 再生纤维素膜采用**1/2**原则，**PES**膜采用**1/3**原则
- 核酸和多糖等接近为棒状，在选择膜孔径时比球状蛋白要更紧密

### 举例：选择合适孔径的再生纤维素膜进行超滤

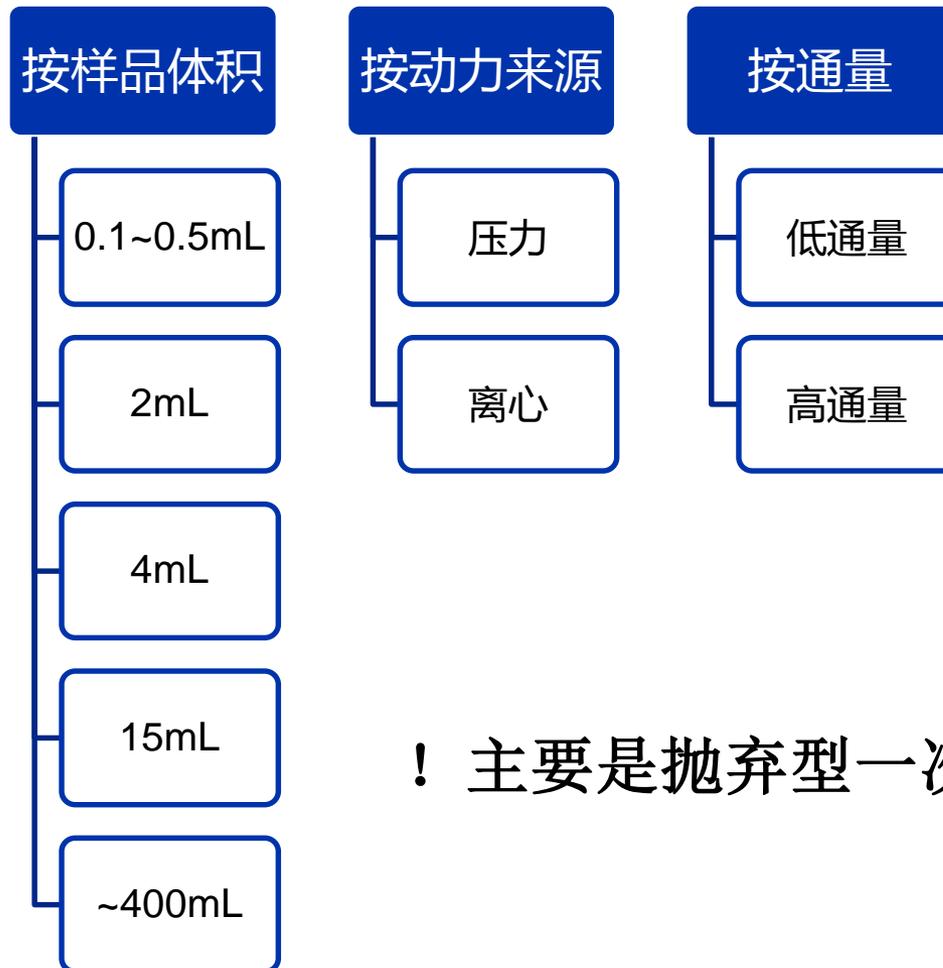
NMWL	细胞色素C 12.4 kDa	BSA 67 kDa	IgG 156 kDa
3 kDa	♥	♥	♥
10 kDa	□	♥	♥
30 kDa	●	♥	♥
50 kDa	●	□	♥
100 kDa	●	●	□

- ♥ 回收率  
>90%
- 回收率通常  
>90%，取决于  
溶质
- 不推荐



- 切向流（TFF）避免被截留的分子堆叠在膜表面形成新的更紧密的“膜”，提高了超滤操作效率——Amicon Ultra超滤管V形双竖膜设计
- 横膜设计产品没有死体积，适合用于药物结合率分析

# 超滤：大分子精制（蛋白、核酸，纳米材料）



！ 主要是抛弃型一次性使用产品

# Merck Millipore 离心超滤管和超滤杯



**Amicon Ultra 0.5**



**Amicon Ultra 2**



**Amicon Ultra 4**



**Amicon Ultra 15**



**Centricon Plus-70**



**Ultrafree MC/CL**



**Stirred Cell**



**Solvent-Resistant  
Stirred Cells**

# 根据需要选择合适规格产品

## 起始样品体积 - 终体积 - 浓缩倍数



500 $\mu$ L

最大上  
样体积

浓缩倍数

33

终体积

15 $\mu$ L  
反转离心



2mL

133

15 $\mu$ L  
反转离心



4mL

80

50 $\mu$ L



15mL

75

200 $\mu$ L



70mL

200

350 $\mu$ L  
反转离心

## Amicon Ultra超滤管主要优点

- 低吸附再生纤维素膜，得率高
- 品种齐全：截留分子量，体积，包装
- 双竖膜：面积大，快速
- 死体积设计防止离干
- 反转离心回收，保证回收率
- 材质低溶出
- **TSSO**强力支持



# 超滤管使用注意事项

- 储存时一般常温即可，耐受温度：**4~50°C**。
- 属于抛弃型产品，不保证重复使用后的实验结果。
- 不能高温高压灭菌处理。
- 不能超过规定的最大离心力。
- 对于浓度较高的样品，可先稀释，然后再离心进行浓缩、脱盐或更换缓冲液。
- 超滤膜一旦湿润后，使用前就必须保持润湿状态



# D-Tube™ Dialyzers 透析管/ 电洗脱管

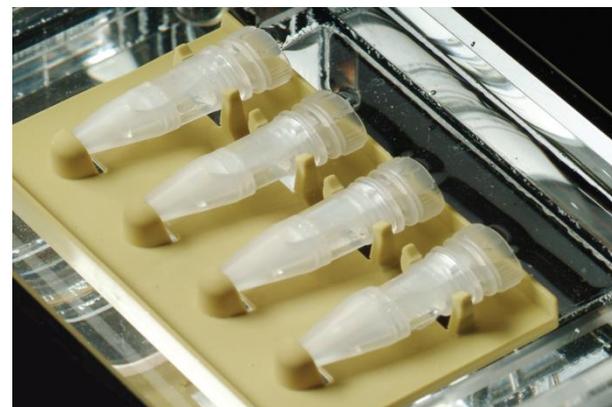
## 方便的透析管设计

### 4种体积

- Mini: 10 – 250  $\mu$ l
- Midi: 50 – 800  $\mu$ l
- Maxi: 100 – 3000  $\mu$ l
- Mega: 3 – 20 ml

### 3种截留分子量

- 3.5 kD
- 6 – 8 kD
- 12 – 14 kD



# 超滤板

高通量应用



## 优点与应用：

- **可靠**：低蛋白吸附，蛋白得率高，孔间数据均一性好
- **功能多样**：样品体积50-500uL 适用，兼容各种96 孔板标准操作设备或自动化平台
- **用于高通量蛋白鉴定与筛选的浓缩、除盐，以及样品分析前大分子蛋白去除**

## 产品订购信息

产品描述	包装数	目录号
MultiScreen® Filter Plate with Ultracel® Membrane, 10,000 NMWL	10	MAUF01010

包括MultiScreen®滤模板和盖子，接收板需另行购买。配套提供深孔接收板MScn Deep Well Rec. Plate PP NS 50/pk，目录号MDCPN2M50

# What is the Microcon DNA Fast Flow?

Microcon DNA Fast Flow is optimized for the concentration and recovery of gDNA. The low non-specific binding characteristics of the membrane coupled with its unique inverted spin recovery allows the device to provide consistency and reproducibility for gDNA applications.

## Features:

- High recovery for small volumes with reverse spin
- Low binding membrane
- Fast processing time
- Flat membrane design for;
  - Forensic gDNA applications
  - Collection of filtrate



# 新产品上市

## Amicon Pro

纯化-除盐-换液一体式设计

2mg蛋白操作的最佳工具



# 主要参考资料

默克密理博生命科学部  
**浓缩、除盐、缓冲液置换**  
生物样本制备产品手册

- 温和透析
- 快速过滤
- 纯化、浓缩、除盐脱液一体化操作
- 蛋白酶抑制剂/微生物样品处理
- 高通量样品操作

Merck Millipore is a division of MERCK

默克密理博蛋白研究产品手册  
**蛋白抽提与纯化** (2014版)

高纯度、高得率带来更多科学发现

- 高效重组蛋白表达
- 温和细胞裂解
- 细胞组分蛋白富集
- 蛋白质组样品制备
- 融合蛋白亲和纯化与分析
- 抗体纯化与免疫沉淀 (IP)

Purify biologically active proteins with gentle, all-in-one recovery.

Amicon® Pro Purification System

Merck Millipore is a division of Merck KGaA, Darmstadt, Germany



核心技术是Millipore的膜——衍生出各种形式的产品



支撑

细胞培养

Millicell  
MultiScreen

Blotting  
PVDF/NC

分离

微滤

Millex, Stericup  
MultiScreen

超滤

Amicon Ultra  
MultiScreen

膜材质作为支撑面具有与封闭表面不同的特性——  
在细胞培养与研究中的应用广泛

## 物质 交换

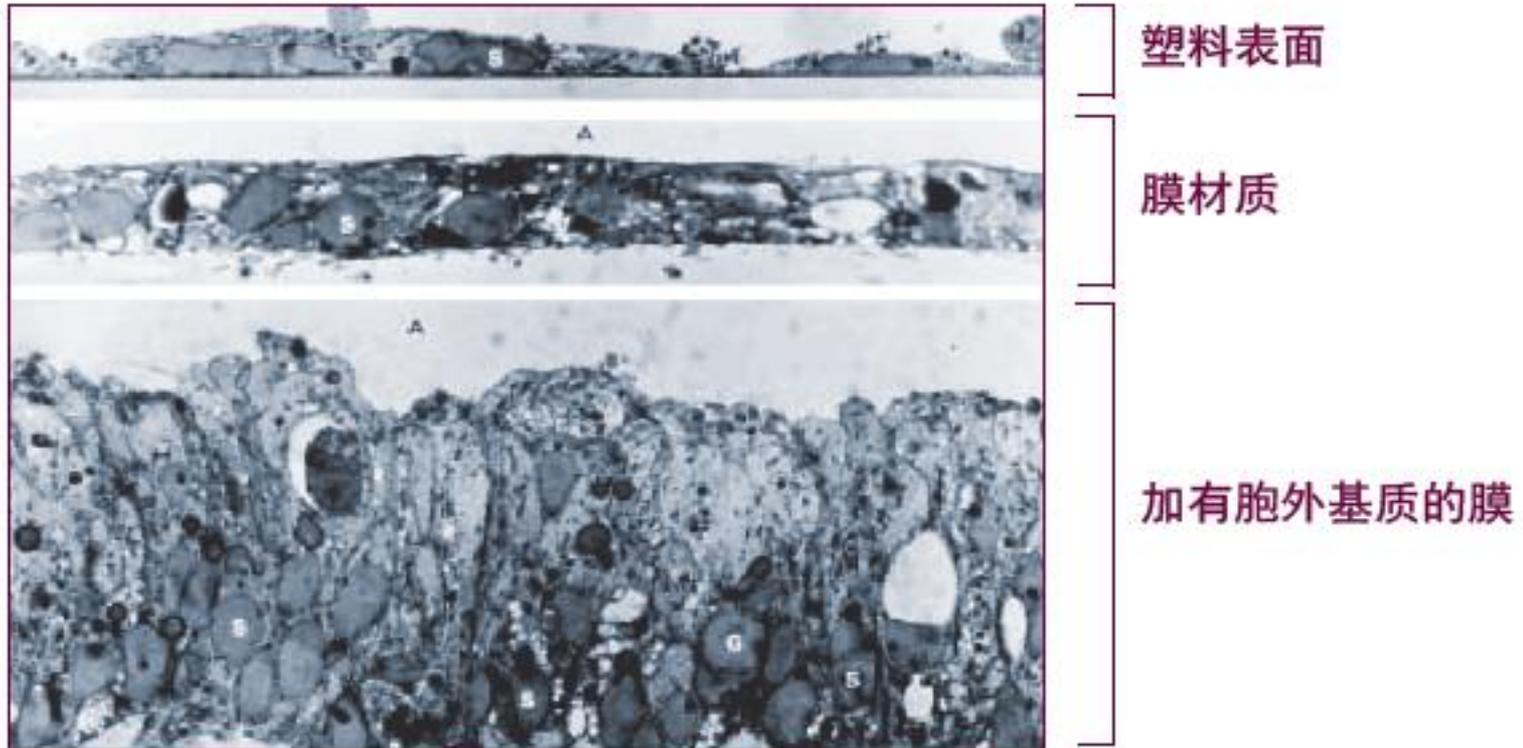
- 3D细胞培养
- 细胞共培养
- 药物结合、吸收、扩散

## 细胞 运动

- 细胞粘附、侵袭、趋化（迁移）

# Millicell® Cell Culture Inserts:

## *Advantages of Cells Grown on Filters*



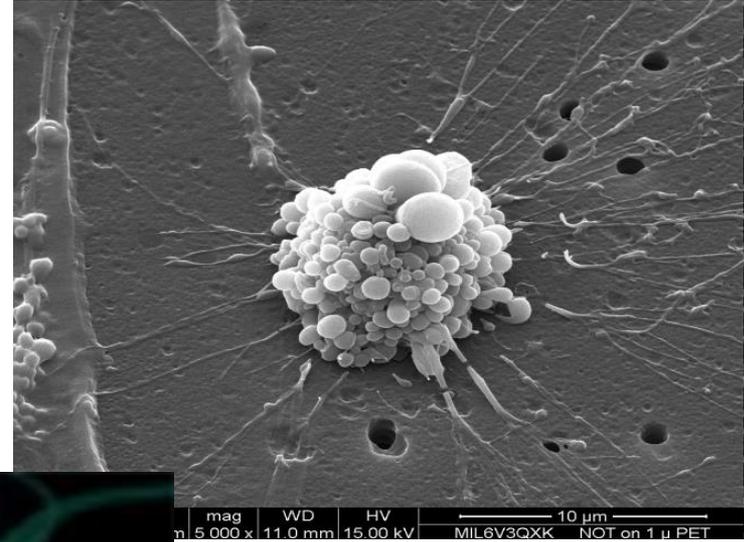
比较Setroli细胞在不同材质表面的生长情况。这篇文献指明在默克密理博再生基底膜(RBM)上生长的细胞形态为卵圆形或锥形细胞核的高圆柱形单层，非常接近这种细胞在体内的正常形态和功能。

# Millicell® Cell Culture Inserts:

## *Advantages of Cells Grown on Filters*

Cells grown on filters experience:

- *Improved cell morphology*
- *Better cell differentiation*
- *More intracellular organelles*
- *Higher cell densities*



# Millicell产品家族



# 膜的类型及特点



**MF-Millipore™ MCE Membrane  
(mixed cellulose esters)**

For exceptional anatomical and functional polarization.



不含Triton，用于特殊的解剖学和功能性分化研究

半透明，贴壁细胞培养不需要包被基质胶



**Isopore™ PCF Membrane  
(polycarbonate)**

For growth of attachment-dependent cells without matrix.



**Biopore™ PFTE Membrane  
(polytetrafluoroethylene)**

For low protein binding, live cell viewing, and immunofluorescent applications.



显微镜下全透明，低荧光背景；贴壁细胞需要包被基质胶

半透明或显微镜下透明（1.0um孔径），贴壁细胞培养不需要包被基质胶



**PET Membrane  
(polyethylene terephthalate)**

For growth of attachment-dependent cells without matrix.



# 悬挂式细胞小室

## 单个独立无菌包装悬挂式细胞培养小室型号

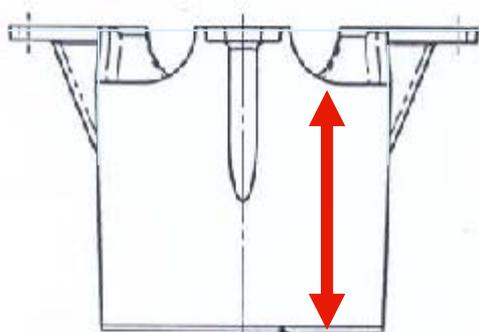


**PET 1.0 $\mu$ m 显微镜下是透明的**

**2015年6月  
货号变更**

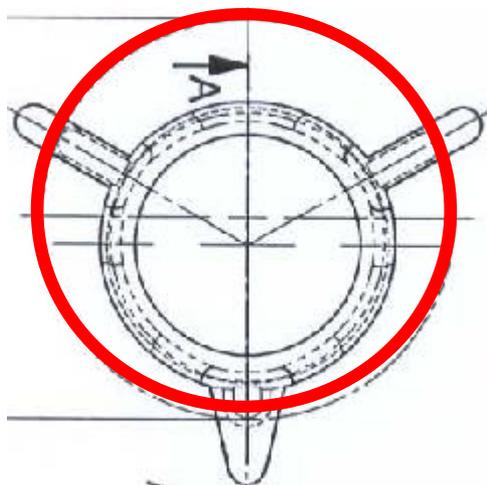
膜	孔径	培养板规格	包装	目录编号
PET	0.4 $\mu$ m 1 $\mu$ m 3 $\mu$ m 5 $\mu$ m 8 $\mu$ m	6孔板	48	PIHT30R48 PIRP30R48 PISP30R48 PIMP30R48 PIEP30R48
PET	0.4 $\mu$ m 1 $\mu$ m 3 $\mu$ m 5 $\mu$ m 8 $\mu$ m	12孔板	48	PIHT15R48 PIRP15R48 PISP15R48 PIMP15R48 PIEP15R48
PET	0.4 $\mu$ m 1 $\mu$ m 3 $\mu$ m 5 $\mu$ m 8 $\mu$ m	24孔板	48	PIHT12R48 PIRP12R48 PISP12R48 PIMP12R48 PIEP12R48

# 悬挂式细胞小室设计特点



人性化的设计：

➤ 特别的排水凹槽设计，不再出现培养小室粘在培养皿盖子上的麻烦情况！



➤ 特别的偏心设计，方便枪头插入下层培养板更换培养液

全部为单个无  
菌包装形式



# 站立式细胞培养小室型号



站立式细胞培养皿提供3种不同的膜类型，包括 Biopore (PTFE膜)，MF-Millipore (混合纤维素酯) 膜和聚碳酸酯膜。



		站立式		
膜材质	孔径	适用于	包装	目录号
亲水PTFE膜 CM	0.4um	6孔板	50	PICM03050
		6孔板	50	PICM0RG50
		24孔板	50	PICM01250
混合纤维素酯 (MCE膜) HA	0.45um	6孔板	50	PIHA03050
		24孔板	50	PIHA01250
聚碳酸酯 PCF	0.4um	6孔板	50	PIHP03050
		24孔板	50	PIHP01250
	3um	24孔板	50	PITP01250
	8um	24孔板	50	PI8P01250
	12um	24孔板	50	PIXP01250

全部为单个无  
菌包装形式

## Millicell器官型插入培养皿

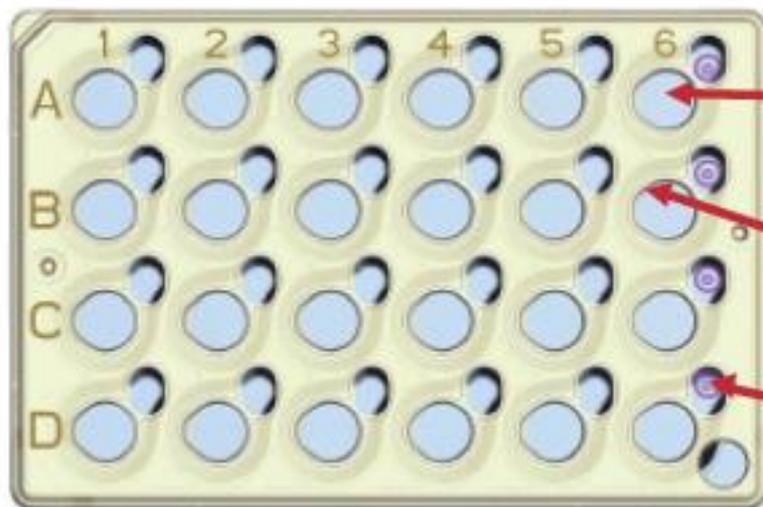


- 用于高细胞存活和移植体3D结构的高级研究
- 较低的高度，适于放入标准有盖培养皿中
- Biopore™ 膜（PTFE）提供了高的细胞存活率（最长可至40天）和极佳的跨膜氧气运输
- 膜是光学透明的，同时对长期器官型移植物培养进行了优化

# Millicell 24孔板组成



# Millicell 24孔板特点

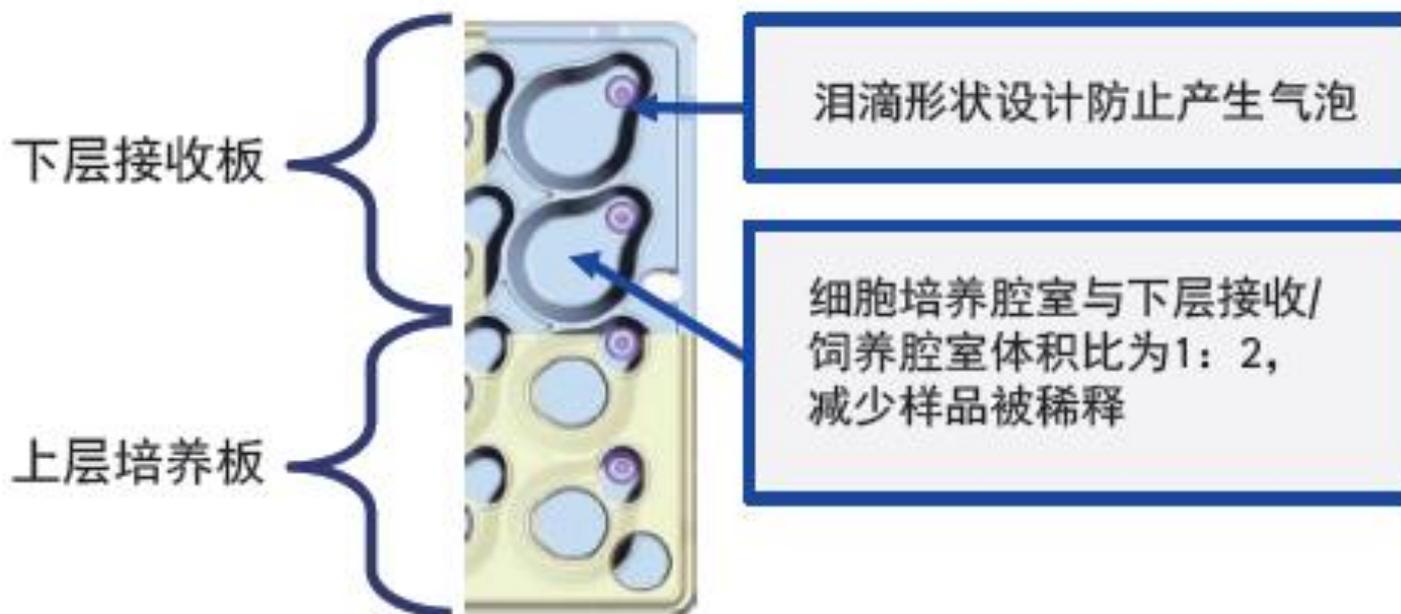


0.7cm<sup>2</sup> 膜面积较同类产品更大

上样平台防止枪头破坏细胞层

独立的加样孔设计可以在不移除培养板的情况下对下层换液

# Millicell 24孔板特点



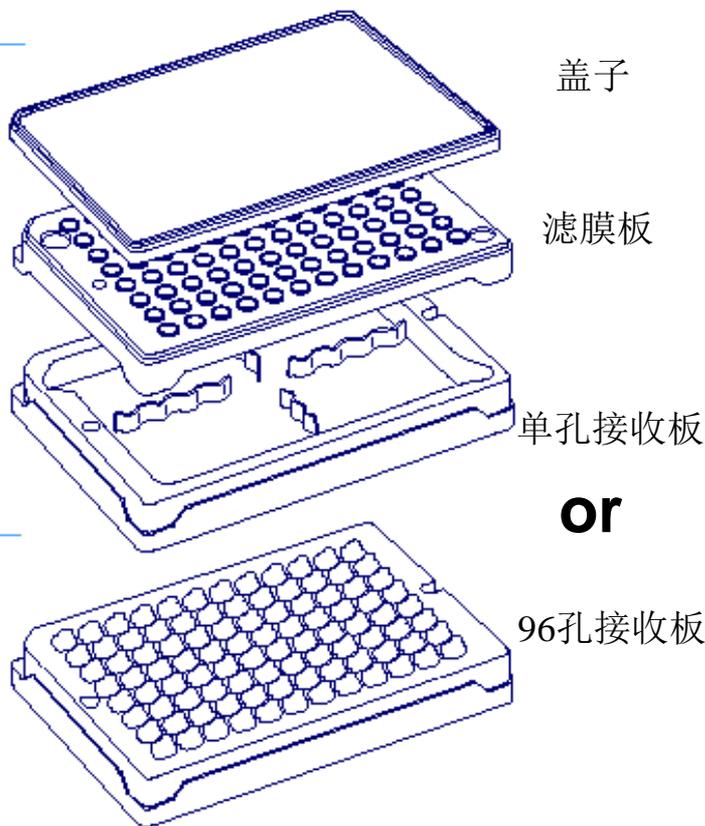
# Millicell 24孔板产品列表

## Millicell®-24 孔细胞培养板套件

24-well cell culture plate, single-well feeder tray, 24-well receiver tray, and lid	PCF	0.4 $\mu\text{m}$	1	 经干细胞 培养验证	PSHT010R1
	PET	1 $\mu\text{m}$			PSRP010R1
	PCF	3 $\mu\text{m}$			PSST010R1
	PCF	5 $\mu\text{m}$			PSMT010R1
	PCF	8 $\mu\text{m}$			PSET010R1
24-well cell culture plate, 24-well receiver tray, and lid	PCF	3 $\mu\text{m}$	5		PSST010R5
	PCF	5 $\mu\text{m}$			PSMT010R5
	PCF	8 $\mu\text{m}$			PSET010R5
24-well cell culture plate, single-well feeder tray, and lid	PCF	0.4 $\mu\text{m}$	5	 经干细胞 培养验证	PSHT010R5
	PET	1 $\mu\text{m}$			PSRP010R5
24-well receiver tray, and lid			5		PSMW010R5

# Millicell 96孔板（设计特点与24孔板一致）

高通量应用



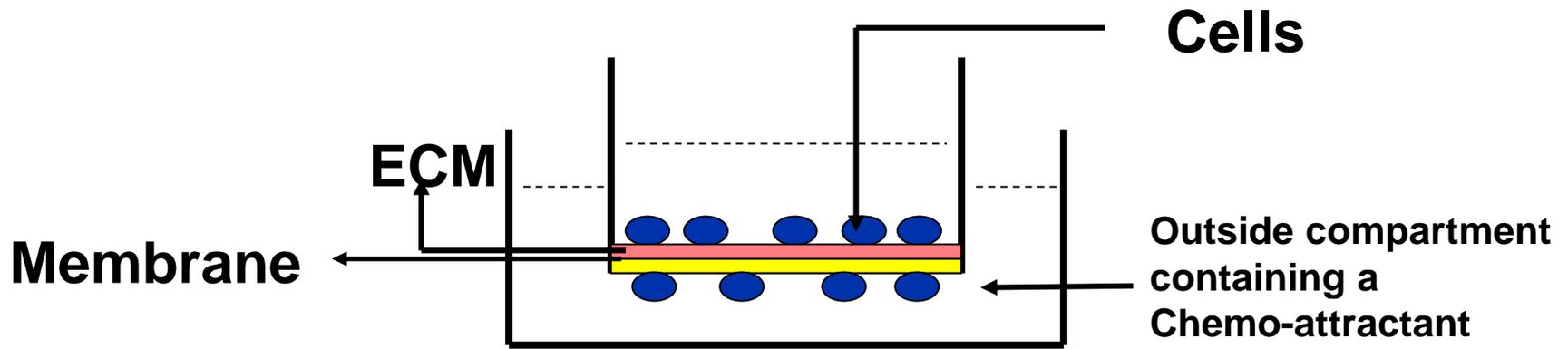
## Millicell®-96 孔细胞培养板套件

96-well cell culture plate, single-well feeder tray, 96-well receiver tray, and lid	PCF	0.4 μm	1	PSHT004R1
	PET	1 μm		PSRP004R1
96-well cell culture plate, 96-well receiver tray, and lid	PCF	0.4 μm	5	PSHT004S5
96-well cell culture plate, single-well feeder tray, and lid	PCF	0.4 μm	5	PSHT004R5
	PET	1 μm		PSRP004R5

Millicell 96孔板常应用于Caco-2药物转运实验



# 细胞运动分析



## Chemotaxis

Directed cell movement toward chemical gradient

## 趋化性

微孔膜- 未包被

## Haptotaxis

Directed cell movement toward ECM protein

## 趋触性

微孔膜- 在小室外部包被ECM

## Invasion

Cell invasion through an ECM protein &/or another cell layer

## 侵袭性

微孔膜- 小室内部包被ECM

滤膜码（推荐孔径）

	<b>Millicell</b> 站立式 (孔径)	<b>Millicell</b> 悬挂式 (孔径)	<b>Millicell</b> 24-孔板 (孔径)	<b>Millicell</b> 96-孔板 (孔径)
血管发生	PCF (3, 8)	PET (3, 5, 8)	PET (3, 5, 8)	MultiScreen MIC Plate*
细胞增殖	PCF (0.4)	PET (1)	PCF (0.4)	PCF (0.4) PET (1)
细胞表面受体	PCF (0.4) HA (0.45) CM (0.4)	PET (1)	PCF (0.4) PET (1.0)	PCF (0.4) PET (1)
趋化性	PCF (3, 8)	PET (3, 5, 8)	PET (3, 5, 8)	MultiScreen MIC Plate*
共培养	PCF (0.4) CM (1)	PET (1, 3)	PET (1) PCF (0.4)	PCF (0.4) PET (1)
侵袭性	PCF (8)	PET (5, 8)	PET (5, 8)	MultiScreen MIC Plate*
上皮细胞生长	PET (1)	PET (1)	PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
饲养层	PCF (0.4, 3, 8)	PET (0.4, 1, 3, 5, 8)	PET (0.4, 3, 5, 8)	PCF (0.4) PET (1)
荧光检测/免疫组织化学	PCF CM (0.4)	PET (all)	PCF PET (1)	PCF PET (1)
体外受精	CM (0.4)	PET (1)	PET (1)	PET (1)
体外毒理学	PCF (0.4) CM (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
微生物附属物	PCF (0.4) CM (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
器官型	Organotypic (0.4)			
相差显微镜检查	CM (0.4)	PET (1)	PET (1)	PET (1)
极化蛋白质分泌物	PCF (0.4) CM (1)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
极化摄取	PCF (0.4) CM (0.4) HA (0.45)	PET (0.4, 1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
转运/渗透性	PCF (0.4)	PET (1)	PCF (0.4) PET (1)	PCF (0.4) PET (1)
肿瘤细胞转移和侵袭	PCF (8)	PET (5, 8)	PET (5, 8)	MultiScreen MIC Plate*

- **8um**  
成纤维细胞  
肿瘤细胞  
神经元

- **5um**  
单核细胞  
巨噬细胞

- **3um**  
淋巴细胞  
内皮细胞

- **0.4um/1um**  
不涉及细胞运动  
适合物质交换

# ELISpot技术

- 技术特点:

1. 单细胞活性功能免疫检测，与多因子/**ELISA**的总浓度检测有不同的意义
2. 灵敏度高（达**0.0025%-0.0003%**）且能够定量（细胞频率），比流式细胞高**10**倍，比**ELISA**高**200**倍
3. 操作简单，高通量（**96**孔板，几百个样本/天），可实现多因子平行检测
4. 数据直观，没有昂贵的仪器要求

- 行业应用：科研-诊断-治疗

是检测细胞（**B**细胞/**T**细胞功能）免疫应答的金标准，免疫诊断的核心竞争力

1. 自身免疫如过敏、糖尿病、器官移植诊断、监测
2. 传染病：肺结核
3. 人用、畜用疫苗开发：免疫原性/免疫应答机理、疫苗疗效，大规模需求

- **ELISpot板——PVDF板为业界一致推荐品种**
- **抗体对：14对常用抗体**
- **封闭剂：BSA**
- **底物：203790 BCIP/NBT**
- **Scepter**
- **相关产品线：ELISA，流式细胞**



Description	Plate material/color	Qty/Pk	Sterile	Catalogue No.
MultiScreen® 8-well strip with Immobilon®-P membrane	Acrylic/Clear	10	Yes	M8IPS4510
MultiScreen® <sub>HTS</sub> -IP plate with Immobilon®-P membrane	Acrylic/White	10	Yes	MSIPS4W10
MultiScreen® <sub>HTS</sub> -IP plate with Immobilon®-P membrane	Acrylic/Clear	10	Yes	MSIPS4510
MultiScreen® <sub>HTS</sub> plate with Immobilon®-P membrane without underdrain	Acrylic/White	10	Yes	MAIPSWU10
MultiScreen®-IP plate with Immobilon®-P membrane without underdrain	Acrylic/Clear	10	Yes	MAIPS4510
MultiScreen®-HA with MCE membrane	Styrene/Clear	10	Yes	MAHAS4510

# 主要参考资料

## 默克密理博 Millicell® 插入式细胞培养小室和培养板 微孔膜材质的细胞培养耗材

从1980年代开始，默克密理博的实验室就开始被一些科学家和细胞培养专家用于细胞培养实验。几十年来，我们的技术和优化，使我们提供的细胞培养产品能够完美满足各种细胞培养的高要求。

### 接近天然状态的细胞生长

细胞在动物体内生长时是在一个三维环境中，可以从各个方向吸收营养并直接接触。而在传统的塑料材质的培养皿中，细胞只能在无接触的营养液生长，这种培养环境与传统体内细胞生长环境不同，不利于细胞的生长。

Millicell® 插入式细胞培养小室培养板采用特殊材料，使生长细胞上下两侧均可与培养基接触。因此细胞处于3D生长状态，细胞直接接触培养基和营养物质。而且，Millicell® 插入式细胞培养小室培养板从培养及培养后细胞的上下面均可进行观察和培养。

### 品种齐全，方便选择

提供多种规格和孔径的插入式细胞培养小室，包括4孔、6孔、12孔、24孔、48孔、96孔。还有微孔膜培养板的多种规格；以上两种产品又包括不同材料制成的多种规格。此外，细胞培养中的细胞生长检测不能，无过氧化氢酶，培养皿及多种规格的培养皿，培养基，培养基等，默克密理博都有多种规格的产品支持。

### 产品优点

- 改善细胞存活率
- 减少细胞死亡
- 提高细胞活性
- 减少细胞污染

插入式培养小室为单个无盖包装形式，方便好用，减少浪费。

• 4孔培养

• 6孔培养

• 12孔培养

1. 细胞在体内生长时是在一个三维环境中，可以从各个方向吸收营养并直接接触。而在传统的塑料材质的培养皿中，细胞只能在无接触的营养液生长，这种培养环境与传统体内细胞生长环境不同，不利于细胞的生长。  
 2. Millicell® 插入式细胞培养小室培养板采用特殊材料，使生长细胞上下两侧均可与培养基接触。因此细胞处于3D生长状态，细胞直接接触培养基和营养物质。而且，Millicell® 插入式细胞培养小室培养板从培养及培养后细胞的上下面均可进行观察和培养。

Merck Millipore is a division of Merck KGaA, Darmstadt, Germany

## 准备·培养·分析

### 默克密理博细胞培养与研究产品手册 [2013修订版]

- 细胞培养试剂
- 细胞培养耗材
- 细胞分析平台：仪器与方法

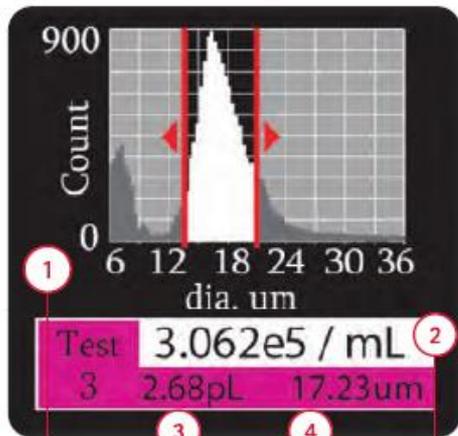
Merck Millipore is a division of MERCK



## Multiply your success. Multiwell solutions for discovery research and sample prep.

Merck Millipore is a division of MERCK

# 便捷的自动细胞计数



1 Histogram displayed as function of cell diameter or cell volume

2 Cell concentration (cells/mL)

3 Average cell volume (pL)

4 Average cell diameter (μm)

- 便携式设计，易于在超净台内操作
- 14s快速完成自动计数
- 库尔特原理对每个细胞精确计数，CV<5%
- 实时定量评估细胞健康状态
- 对复合样本（如外周血单个核细胞）中亚细胞群分别计数
- Scepter™ Pro软件进行数据收集、储存与分析都极为方便
- 适合3-36μm细胞/颗粒精确计数

核心技术是Millipore的膜——衍生出各种形式的产品



支撑

细胞培养

Millicell  
MultiScreen

Blotting  
PVDF/NC

分离

微滤

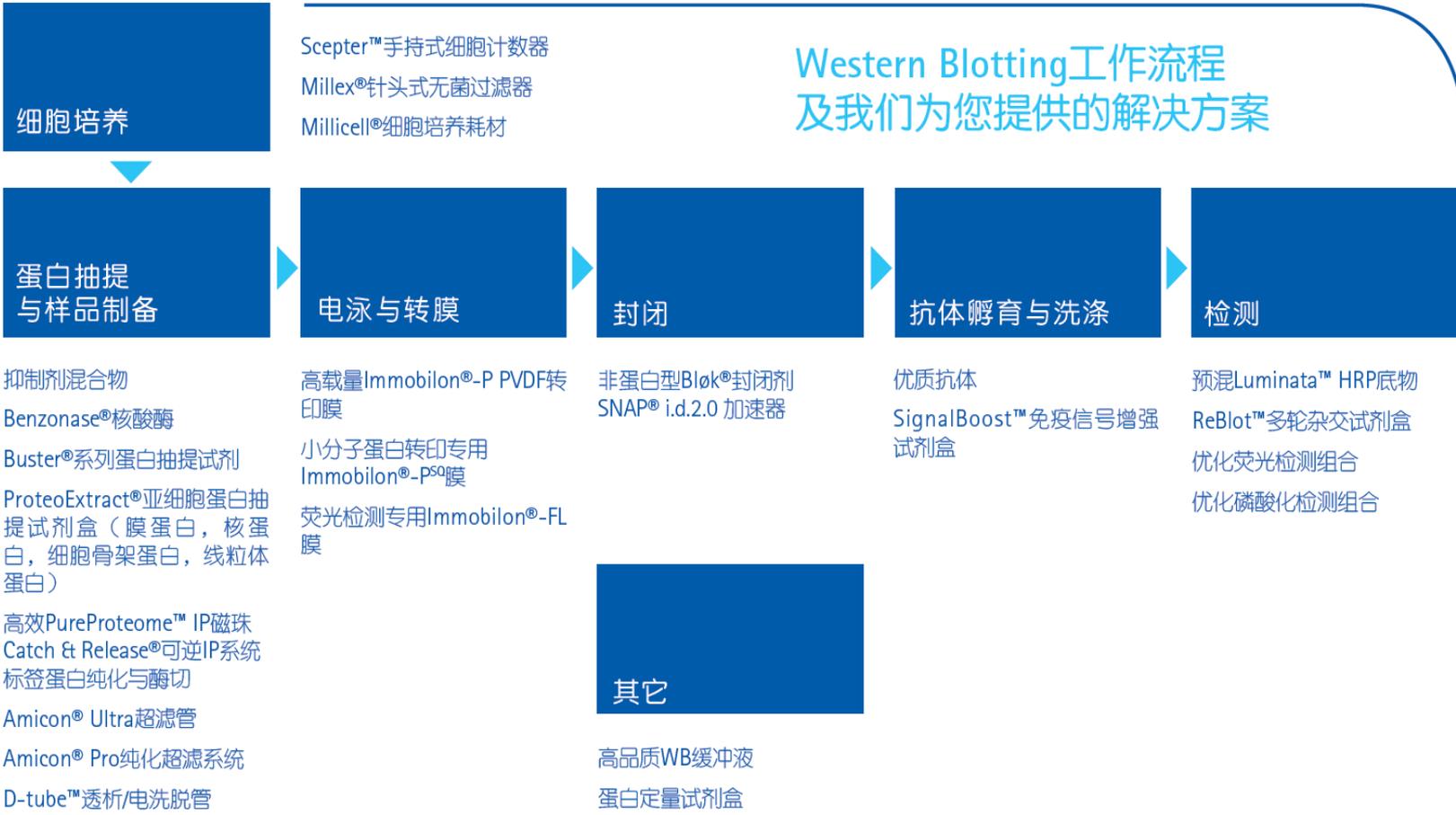
Millex, Stericup  
MultiScreen

超滤

Amicon Ultra  
MultiScreen

# Western Blotting

## 基于膜技术的蛋白经典检测方法——依然是主流方法



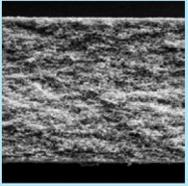
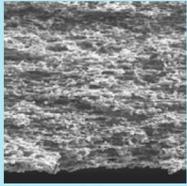
# 关于PVDF比NC膜更适合WB的讨论

- 1975 NC膜被最早用于Southern Blotting；顺理成章地WB中也首先用的是NC膜  
——Towbin用的是Millipore 0.45的NC膜
- 1980 首先开发出PVDF膜，特别适合Western Blotting的应用要求
- Millipore继续推出不同品类的PVDF膜满足WB的特定应用要求
- 用户对WB转印膜的要求是：信噪比高，批次稳定性好



**Immobilon<sup>®</sup>-P**  
**Immobilon<sup>®</sup>-PSQ**  
**Immobilon<sup>®</sup>-FL**

# 关于PVDF比NC膜更适合WB的讨论

	NC膜		PVDF膜		PVDF更适合WB
物理性状/毒性	脆而易卷曲，易破裂，有毒		柔韧，对操作人员无毒性危害		剪裁、操作、保存更方便安全；数据可以长期保存
化学兼容性	不耐受溶剂		更广泛的兼容性		在各种溶剂存在时保持膜的平整
蛋白结合方式	疏水作用，弱结合力		疏水+电荷作用		蛋白结合牢固，操作过程中不易丢失，在做多次杂交时特别重要
蛋白载量	约100ug/cm <sup>2</sup>		是NC膜的2-3倍		信号强，易于检测低丰度蛋白
信噪比	较差		结合蛋白牢固、载量高，孔结构更为开放，易于较彻底地漂洗		信号强而背景低
显色方法	?		生色，化学发光，荧光，放射性均可		任意选择获取数据的形式都能获得好的结果
多次杂交	物理性能和蛋白结合能力都不允许		适合多轮杂交的操作，结果依然稳定漂亮		同一样品（转印膜）获得更丰富的数据

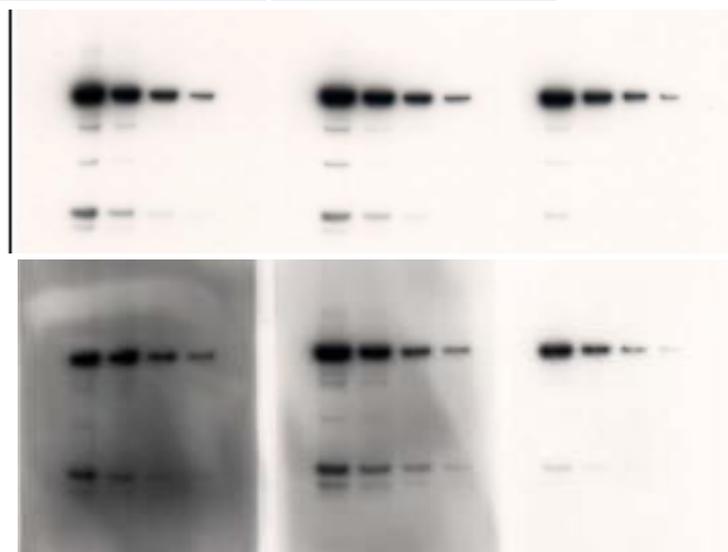
\* 更多品种选择用于不同WB

# MM的PVDF膜

Name	Membrane	Pore size (μm)	Binding capacity (μg/cm <sup>2</sup> )	Roll size	厚度
Immobilon®-P	PVDF	0.45	Goat IgG: 294 BSA: 215 Insulin: 160	26.5 cm x 3.75 m	100um
Immobilon®-PSQ	PVDF	0.2	Goat IgG: 448 BSA: 340 Insulin: 262	26.5 cm x 3.75 m	200um
Immobilon®-FL	PVDF	0.45	Goat IgG: 300 BSA: 205 Insulin: 155	26.5 cm x 3.75 m	

能否简单地只使用**0.22**的膜？

更厚、材质更紧密易于带来背景，不易优化

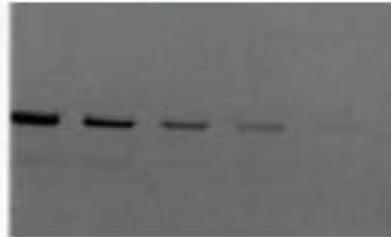


# MM的PVDF膜-FL

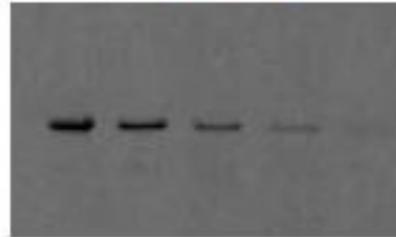
Immobilon®-FL



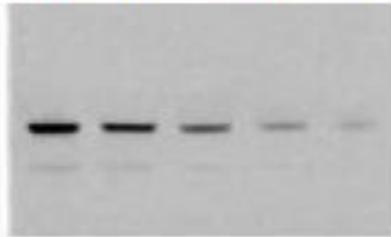
PVDF 1



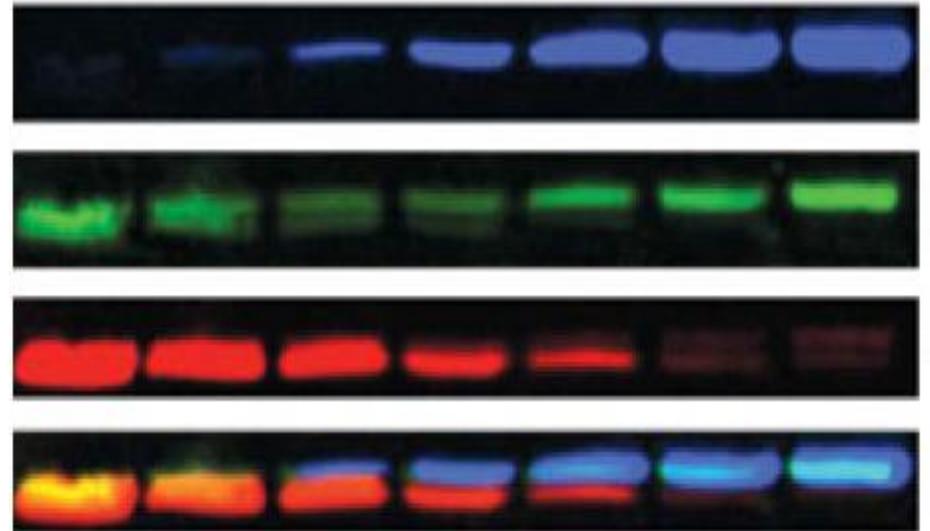
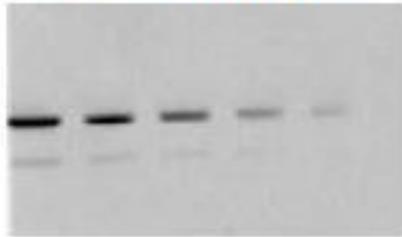
PVDF 2



Nitrocellulose 1



Nitrocellulose 2





*Thank you for your attention!*