

Phenotype MicroArrays

PM高通量微生物表型分析系统









0:0

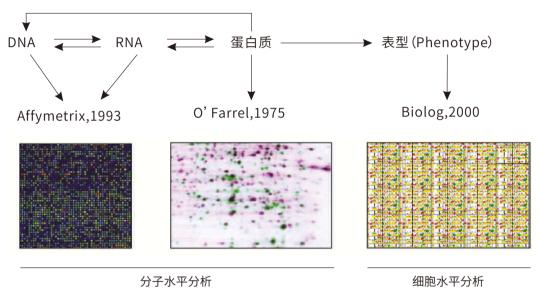
0:0

0.0

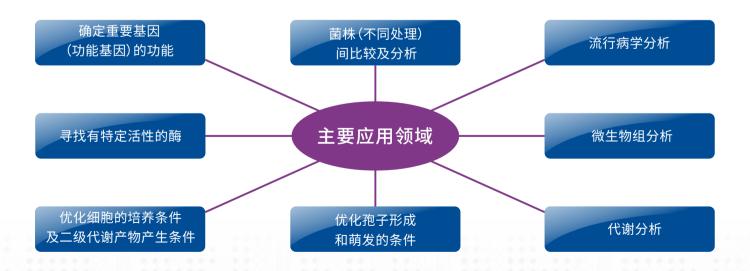
. .



美国BIOLOG公司致力于微生物鉴定领域新技术新产品的开发、生产和销售,是全球高新技术百强之一。美国 BIOLOG公司根据其多年对全自动微生物鉴定系统相关技术的积累,开发了一种全新的专利技术——高通量表型 分析技术(PM)。PM可用来测定微生物细胞的表型,是与DNA芯片和蛋白质组技术并列的、应用在基因组研究和药 物开发的三大技术之一。PM技术使生物学家历史上第一次可以迅速、简单、准确、高效的以同一标准模式同时测试 几千种细胞表型。通过对活体细胞进行测试,可以检测细胞基因变化、用药甚至环境变化后所引起的细胞表型的变 化情况。该技术是分子方法(如: DNA芯片和蛋白质组等方法)非常有力的支持和补充手段,在其强大软件的支持下



Bochner, B. New technologies to assess genotype-phenotype relationships. Nat Rev Genet 4, 309-314 (2003). https://doi.org/10.1038/nrg1046



000000

0:0:0

-0-0-

.

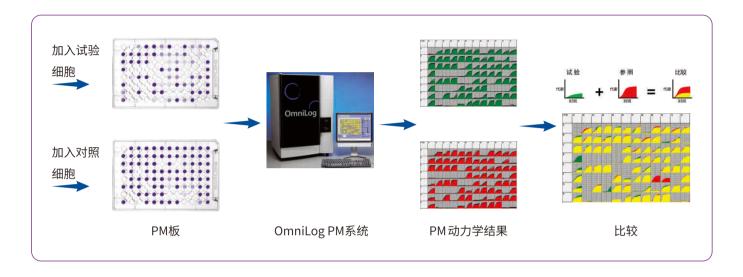
. .

00

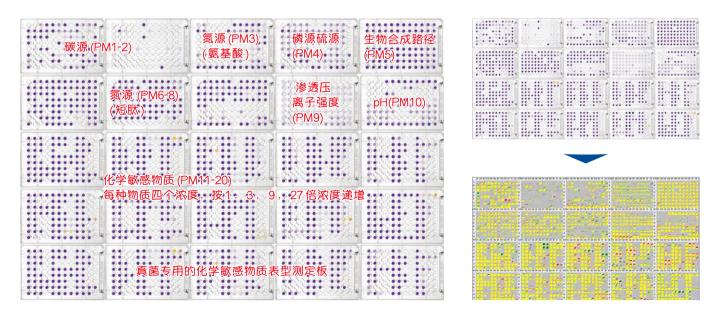


PM原理

PM系统在96孔微孔板 (PM平板) 的每个孔里固定不同的干化细胞培养基质, 当加入细胞悬液和显色物质并培养后, 细胞表型就可以通过颜色变化表现出来。如果细胞发生呼吸代谢, 那么显色剂就从无色的氧化态被还原为紫色的还原态, 表型反应为阳性; 如果无颜色变化, 则表型反应为阴性。微孔板的培养及数据的获取由 OmniLog 系统自动完成, 系统可定时自动测定颜色变化值, 最后得到表型反应的动力学曲线, 从而定量测定表型反应的强弱。样品的动力学曲线 (显示为绿色) 及对照的动力学曲线 (显示为红色) 通过系统中软件的数据计算、处理后叠加在一起。有相同动力学曲线的重叠区域被标记为黄色, 而有差异的表型部分则很明显的显示出来 (红色/绿色)。



各种不同的PM平板上包被了多种活体细胞生长需要依赖的基质,因此可以进行不同生长条件下的测试。包括有 C、N、P、S、渗透压、PH值、化学药物等基质条件下细胞表型的测试,目前PM表型板25块,测试的表型达到了 2400种,已经可以用于革兰氏阴性细菌、阳性细菌、酵母和丝状真菌细胞表型的研究。



25种PM板, 2400个表型测试, 2400条动力学曲线, 海量信息……



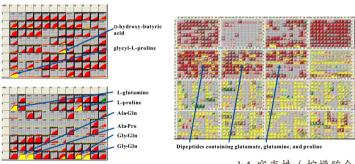
PM技术应用

PM为后基因组时代的功能基因组学及基因网络分析提供了一个广阔的平台,这个平台具有广泛的可扩展的潜力。 PM技术使生物学家历史上第一次可以迅速、简单、高效地同时测试成千上万的细胞的表型,可直接或间接测定细胞大部 分已知的表型或功能:

- 细胞表面结构与转运功能研究
- 碳、氮、磷、硫的代谢研究
- 小分子、大分子及细胞器的合成与功能研究
- 细胞呼吸功能研究
- 细胞抑制和修复功能
- 其它细胞代谢特性

一、基因功能研究

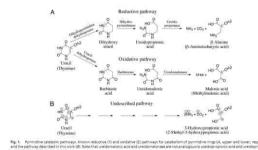
- 确定功能基因组的功能
- 发现编码特定靶标的基因
- 细胞系改进
- 细胞表型稳定性测试(基因稳定性)
- 微生物进化研究

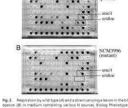


gltA 突变株 (柠檬酸合酶)

gltA突变型(测试/绿色) 和野生型(对照/红 色)分别进行了1920种PM的检测。突变和对 照的动力学曲线由分析软件叠加后显示出来。 gltA突变株生长需要可利用的碳源包括谷氨 酸,表明表型芯片识别出E.coli营养缺陷型的 营养需要。这个突变株同样显示出在碳源和氮 源包含谷氨酸和脯氨酸的情况下可以代谢生 长。有趣的是,α-羟基-丁酸也能支持其代谢 生长。

• 尿嘧啶新代谢通路的发现





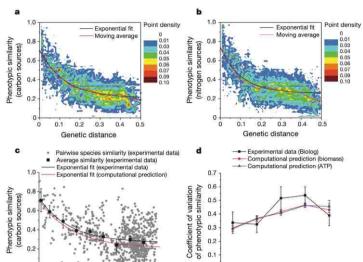
Results

Behavior on Biolog Phenotype MicroArray Plates. We tested our parental strain NCM3722 and strains with mini Tn5 insertions in several genes of the b1012 operon on Biolog (Hayward, CA) Phenotype MicroArray plates (PM3) for nitrogen catabolism, which couple utilization of various N sources to reduction of a tetrazolium dye and production of purple color (10, 11). We also tested a strain carrying an ntrB(Con) mutation, NCM3876, and ocrresponding mutant derivatives. Strains NCM3722 and NCM3876 [ntrB(Con)] could respire with uracil or uridine as N source at room temperature, whereas mutant derivatives could not (Fig. 2 and data not shown). Parental strain NCM3876 [ntrB(Con)] could also respire with thymidine or thymine as N source (data not shown). None of the strains could respire with pyrimidines as N source at 37°C.

Low, Kustu, and coworkers., PNAS 103, 5114(2006). https://doi.org/10.1073/pnas.0600521103



• 细菌的长期表型进化



https://doi.org/10.1038/nature13827

0.2

Figure 2 [Evolution of bacterial metabolic growth phenotypes. Genetic distances in the figure are based on bacterial 165 fRNA sequences. a. The evolution of phenotype similarity in the usage of carbon sources for blomass synthesis. The colours represent the point density at a given genetic distance for all pairwise comparisons between metabolic models (or = 26,106). The horizonterior production of the production is the production of the production of the productions. Is like a but phenotypic similarity in the usage of airrogen sources for biomass production across metabolic models (or = 36,856). Experimental analysis of the long-term phenotypic divergence trend. Grey points represent pairwise comparisons of

0.2 0.3

Genetic distance

0.2

0.1 0.2 0.3 0.4 Genetic distance carbon usage phenotype (Biolog data) between 40 bacterial species (n=780). The black squares represent the average values of experimental phenotypic similarity at different divergence distances. The black line represents an exponential fit to the experimental phenotypic similarity data fit produced by the properties of the proposents are exponential fit to the experimental phenotypic similarity data for biomass synthesis. 4. The variability of experimental and computationally precisive phenotypic similarity data for biomass synthesis with a produced produced and computationally precisive phenotypic similarity data for the discontinuous constraints of the similarity and first divergence discontinuous constraints of the standard deviation to the man. Error bars in can del represent semi-obtained on the basis of 10,000 bootstrap re-samplings of the considered species.

Plata, G., Henry, C. & Vitkup, D., Nature 517, 369-372 (2015).

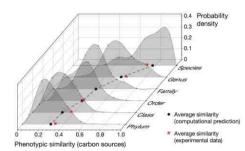
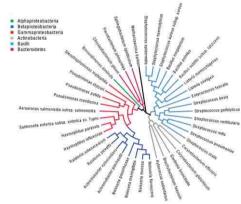


Figure 3 | Distribution of phenotypic similarity at different levels of bacterial taxonomic classification. The distributions of phenotypic similarity in the usage of carbon sources for biomass synthesis were obtained based on computational simulations of metabolic models (n = 26,106). The dashed line connects the expression $\frac{(3)}{(3)}$, $\frac{(3)$ computational simulations of metabolic models $(n-2o_1loo)_1$. The dashed mix-connects the average values (black dots) of computational predictions at each taxonomic level. The red asterisks in the figure indicate the average values of experimental data obtained using Biolog arrays (see Methods).



• 大肠杆菌K-12的综合资源数据库

Global view



Gene view



Plate view



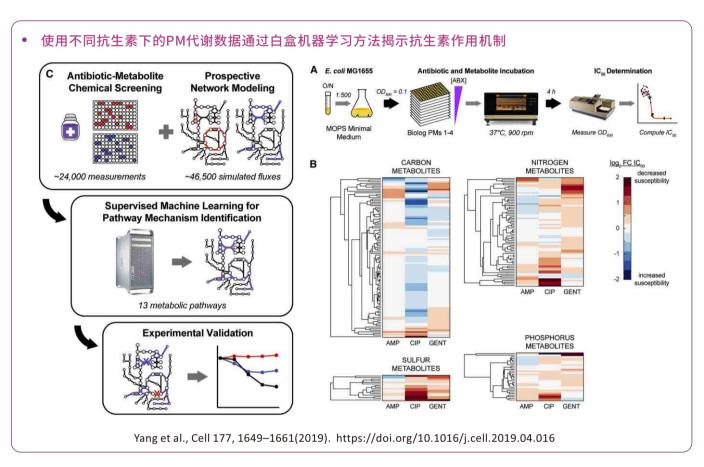
-	41) 4
months	Person
-	•[
	BERTHER LANGUAGE COUNTY
	U(1000 m) prompts
	THE STREET PRODUCTS ASSESSED.
	MARKET Francisco Pagnetical
manus forest	
	STREET FROM THE SERVICE STREET, STREET OF THE SERVICE
	SHACK Server complete and the control of the contro
	SOUTH CASE STREET, STR
	PRODUCTION SOUTH STORY NATIONAL PRODUCTION STORY
	HARRISON SIGNA MICHIGAN STREET, 14th ST. STREET, 145-117
	PROBLEM STORY SHOWS AND ASSESSMENT AND ASSESSMENT AND ASSESSMENT AND ASSESSMENT ASSESSME
	to the state of th
	THE RESERVE AND ADDRESS OF THE PARTY OF THE
Helpe .	2431
	Harman .
THE STATE OF THE S	100
	25
	18

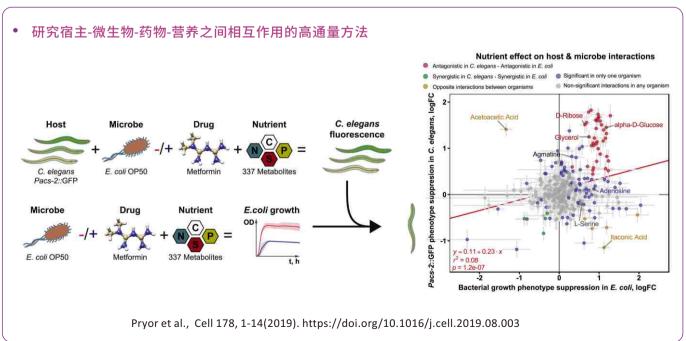
Yuta Otsuka et al., Nucleic Acids Research 43, D606–D617(2015). https://doi.org/10.1093/nar/gku1164



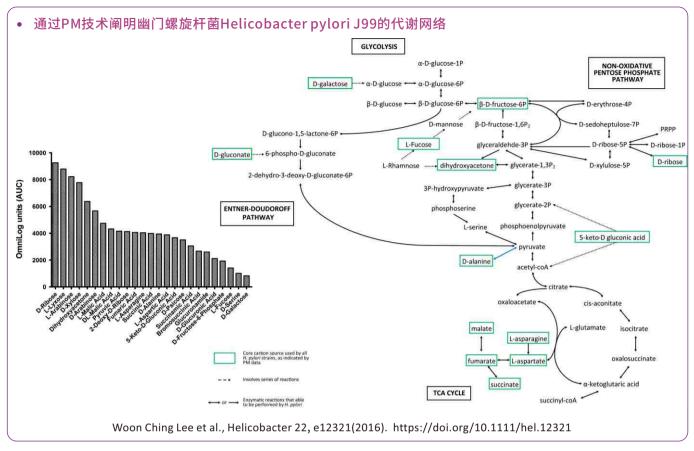
二、微生物代谢模型及代谢分析

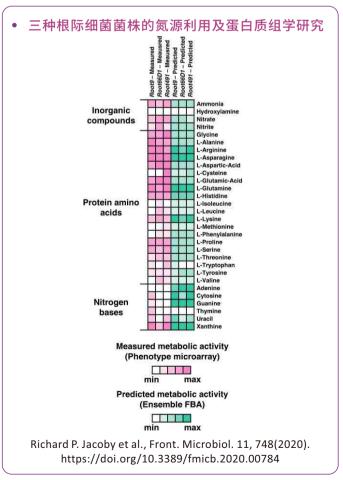
通过传统的代谢组学手段往往只能获得微生物的代谢产物信息,而无法获得相应代谢底物及代谢中间物的相关信息。而PM系统通过覆盖和微生物代谢相关的几乎所有代谢底物测试,可高通量的获取大量的代谢信息为后期建立代谢模型,推测代谢路径及为更进一步的研究提供大量有意义的数据。

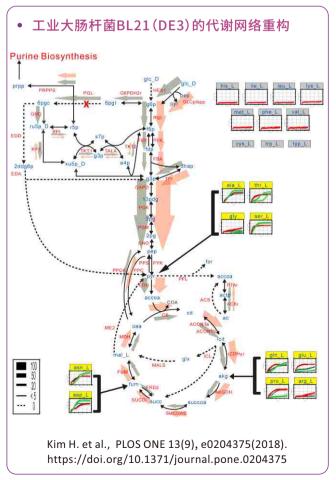








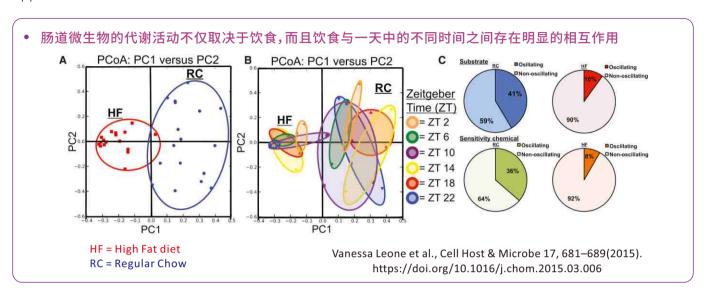




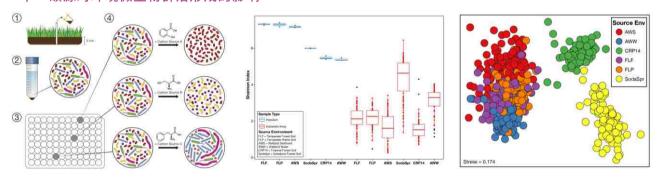


三、微生物组(微生物群落)分析

Biolog PM从微生物组代谢功能的角度提供了一个不同的研究方法。通过检测不同基质(多糖、糖、蛋白质、氨基酸、羧酸、脂肪酸等)相对代谢率的变化,可以简便且直观的反映活细胞的代谢情况。用整体论的方法(Holistic Approach)将微生物群落当成一个有功能的整体来进行研究。

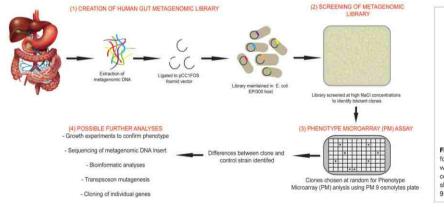


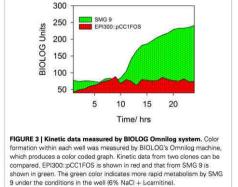
• 单一碳源对环境微生物群落形成的影响



Theodore M. Flynn et al., Front. Microbiol. 8, 2321(2017). https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02321

• 使用PM技术筛选从人肠道宏基因组库中分离的许多耐盐克隆,以评估其功能能力



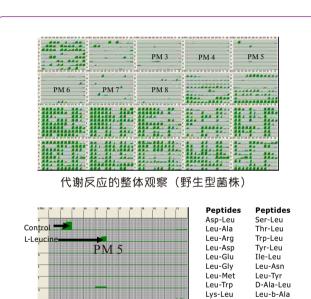


Eamonn P. Culligan et al., Front. Microbiol. 5, 189(2014). https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00189



四、发酵条件优化及代谢调控研究

- 发酵条件优化: PM技术可用于微生物发酵条件优化, 例如用 PM1-10, 在2天内可获得约1000个代谢信息, 对这些信息进行分析后, 可获得最有用的几十个对细胞培养有利的底物信息, 进一步优化后可以快速确定细胞的最佳培养条件。
- 代谢调控因子研究:通过将实验组(细胞+调控因子)与对照组(细胞,不含调控因子)接种在同一种PM板上,培养数天后,可以获得大量的信息,通过软件对比,可以快速找到调控因子对代谢的影响。
- 优化孢子萌发的条件、孢子形成条件研究:在真菌研究和应用领域,孢子的萌发和形成是经典的研究方向。将 PM技术与传统的真菌形态学观察相结合,可以快速找到影响孢子萌发和形成的因素。
- 优化二级代谢产物生成条件:如抗生素,细菌、真菌毒素的产生,将PM技术与抑菌圈法、色谱法、直观颜色判断法或活细胞测试等相结合,通过快速确定培养后PM板每个微孔中的菌液是否含有相应的刺激代谢产物。
- 发现有用的酶活性:将PM技术与其它酶活快速筛选或生物信息学方法结合,可对培养后的PM板的每个微反应体系进行快速初筛,以判断某种底物是否对产生特定酶有用。



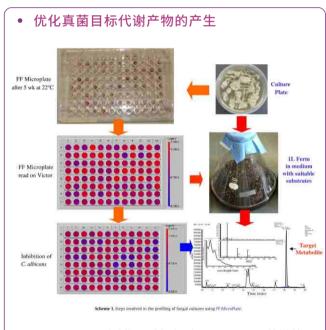
PM 6-PM 8 的结论验证了 PM 5 的发现,亮氨酸对生长是必需的,支持该菌株生长的肽中都含有亮氨酸

Met-Leu

Pro-Leu

Leu-D-Leu Gly-Gly-D-Leu

Gly-Gly-Leu

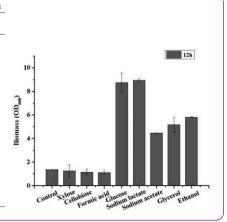


M.P. Singh et al., J. Micro. Methods 77,102 - 108 (2009). https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.01.014

• 盐单胞菌TD01代谢底物分析 及低成本发酵底物筛选

J. Zhang, et al., Journal of Biotechnology 316, 1–5 (2020) https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.04.007

Category	Plate position	Carbon source	Growth observed	Omnilog uni (OU)
Negative control	PM1-A01	Without carbon source	12	68
Carbohydrate	PM1-A10	D-Trehalose	+	276
1988 (ASSOCIATION CONT.)	PM1-B02	D-Sorbitol	+	265
	PM1-B03	Glycerol	+	257
	PM1-B11	D-Mannitol	- H	269
	PM1-C07	D-Fructose	1	273
	PM1-C09	α-D-Glucose	135	268
	PM1-C10	Maltose	+	268
	PM1-D09	α-D-Lactose	+	204
	PM1-D11	Sucrose	+	260
	PM1-A02	L-Arabinose	+	165
	PM1-B08	D-Xylose	+	159
	PM1-F11	D-Cellobiose	+	189
Carboxylic acid	PM1-A05	Succinic acid	+	269
	PM1-B06	D-Gluconic acid	+	267
	PM1-B09	L-Lactic acid	+	256
	PM1-B10	Formic acid	+	138
	PM1-C03	DL-Malic acid	+	265
	PM1-C08	Acetic acid	+	258
	PM1-F02	Citric acid	+	268
	PM1-H08	Pyruvic acid	+	276

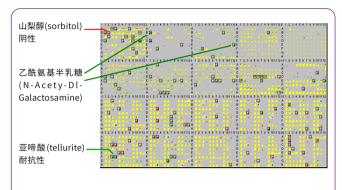




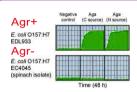
五、菌株(不同处理、环境)间代谢信息的比较与分析

通过分子生物学手段往往无法区分同种微生物的不同菌株,更无法对相同菌株在不同环境下的特性进行对比分析,而PM系统则可快速锁定其代谢差异,为后期进一步的研究指明方向并提供相应数据。特别适合微生物代谢、致病机理研究以及进行流行病学分析。

致病的大肠杆菌菌株(E. coli O157:H7)的分析



致病的 (O157:H7) 和非致病的野生型(MG1655) E. coli 之间的代谢比较







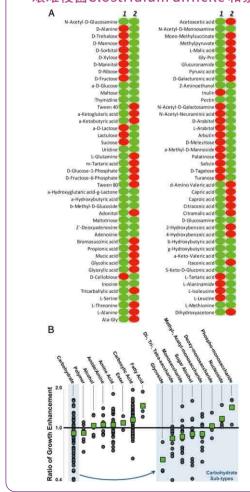
PM plot of the utilization of Aga by E. coli O157:H7 EDL933 and EC4045, a spinach isolate. Data derived from the increase in intensity of the color of the reduced dye A, expressed in AU (maximum of 500 AU), are plotted against time (48 h) using the PM software from Biolog. E. coli O157:H7 EDL933 utilizes Aga as carbon and nitrogen sources, whereas EC4045, a spinach isolate, cannot

Growth of E. coli O157:H7 on M9 minimal agar plates with Aga or glucost (positive control). E. coli O157:H7, EDL933, and Sakai and two spinacl isolates, EC4945 and EC4113, were streaked on M9 minimal medium aga plates with 0.2% glucose (A) and 20 mM Aga (B) as carbon sources and incubated at 37°C for 48 h.

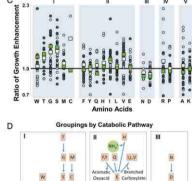
美国FDA实验室常规应用表型分析其收集的肠道病原菌标本,由此发现Aga 阴性的 E.coli O157:H7 菌株

Amit Mukherjee et al., J. Bacteriology 190, 1710-1717(2008). https://doi.org/10.1128/JB.01737-07

• 艰难梭菌Clostridium difficile 和索氏梭菌 Clostridium sordellii代谢表型比较







ate V AK Not efficiently metabolized

左图:碳源表型分析 上图:氮源表型分析 1:Clostridium difficile 2:Clostridium sordellii

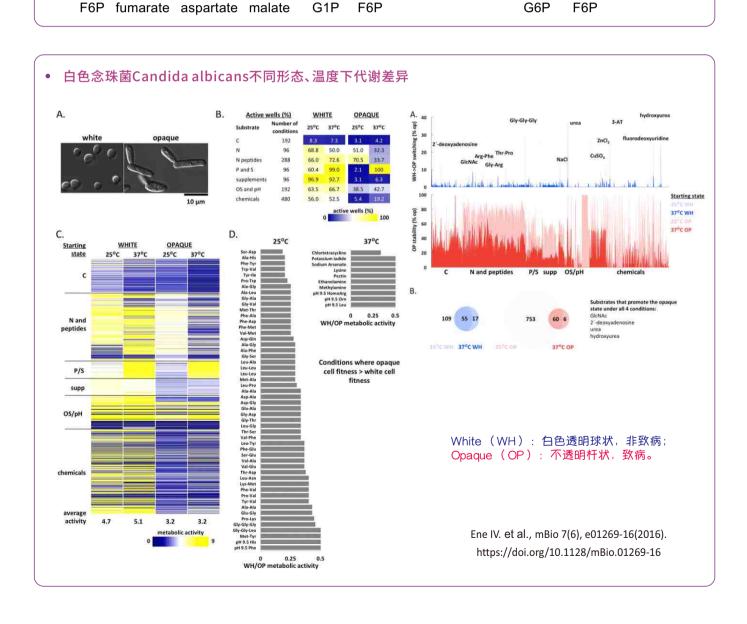
红色:代谢阴性绿色:代谢阳性

Scaria, J. et al. BMC Genomics 16, 448(2015). https://doi.org/10.1186/s12864-015-1663-5

IV R.P Urea Cycle -- Fur



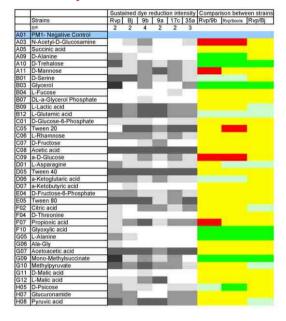
• 假结核耶尔森氏菌Yersinia pseudotuberculosis不同温度下碳源代谢差异假结核耶尔森氏菌在26°C vs 33°C,低温下打开磷酸单糖的代谢通道。最近研究表明,耶尔森氏菌有一种对温度敏感的蛋白 RovA,它是一种重要的致病性调控因子。 1087 15464 (type) 15478



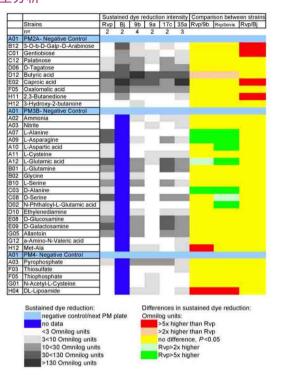


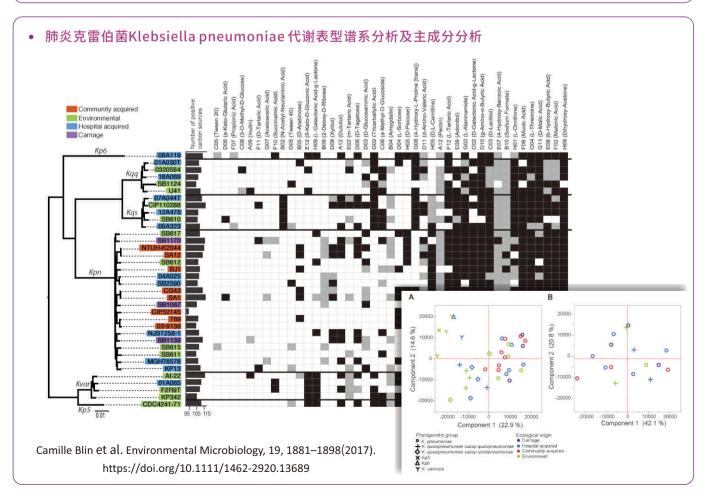
六、流行病学分析





Paul Wheeler et al., PLoS ONE 8(1), e52673(2013). https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052673



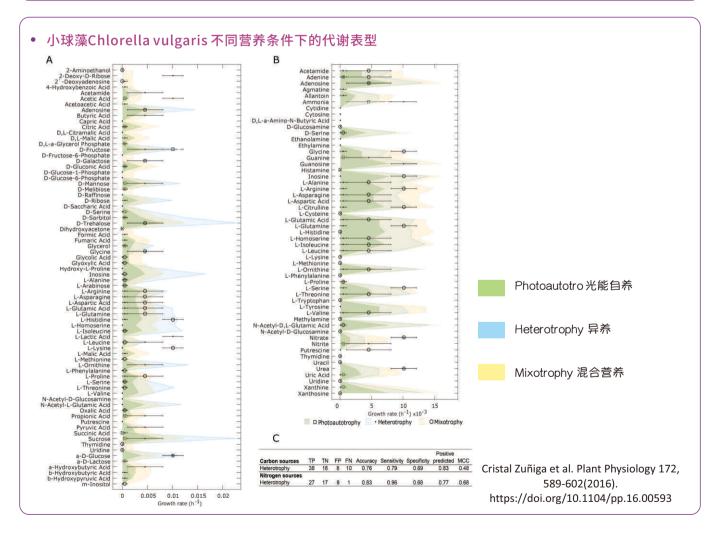




七、其他应用

PM系统除了常用于细菌、真菌等微生物的表型测试研究外,还可用于立克次氏体、噬菌体等不易培养的微生物的表型测试。此平台具有广泛的可扩展的潜力,可用于测试几乎所有种类微生物的表型,甚至还能用于小球藻等单细胞生物的研究。

产生Q热的细菌贝纳特氏立克次体Coxiella burnetii, 脱离寄主细胞的生长,低氧条件下可检测出代谢活性。
 20% oxygen 5% oxygen 2.5% oxygen 41-----A12
 Anders Omsland et al., PNAS 106, 4430(2009). https://doi.org/10.1073/pnas.0812074106



Pm系统是一开放性的平台,不同用户可根据自己的情况进一步开发此平台的用途。更多相关文献及应用请访问: https://www.biolog.com/support/bibliography/,或与我们产品专员联系。



PM软件

Pm系统包含两张软件光盘,包含的软件如下:

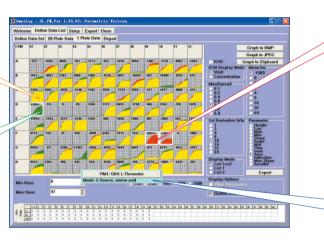
CD1:Data Collection 数据收集软件

CD2: Data File converter数据转换软件, File management/Kinetic Analysis 动力学分析软件,

Parametric Analysis 菌株表型对比软件

黄色部分代表实验株与对 照株颜色变化曲线叠加

绿色代表实验株的颜色变化,图中没有黄色,表明对 照株不能利用此底物



红色代表对照株的颜色变化,图中没有黄色,表明实验株不能利用此底物

在每个孔上单击右键,即可显示每个孔的底物名称,并提供链接到百科全书,点击可查阅此底物的相关信息,包括分子量、分子式、代谢途径等

订货信息

货号	描述	备注
93182	Omnilog PM system Omnilog PM表型分析系统	适用于只做PM表型分析的用户含Omnilog主机、浊度计、 八道移液器、电脑、软件套装
94372	Omnilog Combo system 微生物全自动鉴定及表型分析系统	适用于做PM表型分析和好氧细菌鉴定的用户含Omnilog主机、浊度计、八道移液器、电脑、软件套装。可选Gen III数据库。
94392	Omnilog Combo Plus system 微生物全自动鉴定及表型分析系统	适用于做PM表型分析和微生物鉴定的用户含Omnilog主机、浊度计、八道移液器、电脑、软件套装。可选Gen III, AN, YT和FF数据库
UA24000-PM	Upgrade Add PM to OL DC SW Rls 2.3 在OMNILOG鉴定基础上升级添加 PM软件模块)	PM数据收集软件和数据分析软件套装注:此升级仅适当软件版本>2.1的用户,早期的1.X版本硬件不同,需要升级硬件(R91360M)
R91360M	Retrofit Upg to OL USB optics 硬件升级套装	适合DC软件版本<2.1的用户,更换整个拍照装置和数据接 口

PM耗材

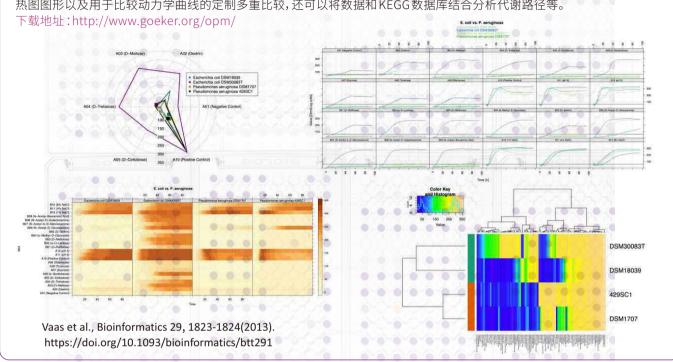
PM实验所需的耗材取决于菌株和做哪种PM板,购买前请咨询专业人员

培养基	通常用BUG、BUA、BUY或其它客户准备的培养基
PM板	PM1-25, 按需要选择
接种液	不同PM板或不同种类微生物所使用的接种液不同,分为五类
染料	分为7种(A、B、D、E、F、G、H),每类微生物使用的染料不同;
其它添加物	如做PM3-8时,需要添加额外的碳源,对于不同微生物,厂家会推荐最佳的碳源

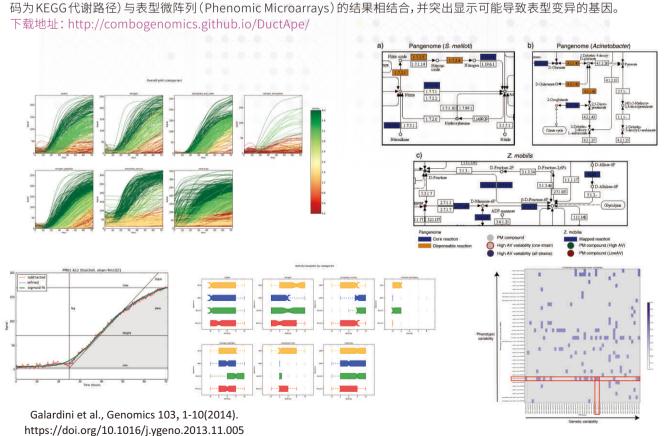


强大的第三方分析工具

OPM是一个基于R语言环境的统计学软件包,用于PM数据分析,提供了优化和分析动力学曲线、聚合曲线参数、记录样品和实验设置的相关元数据以及用图形和统计方法分析高度复杂的数据集等工具。该软件包还包括95%的置信度图,增强的热图图形以及用于比较动力学曲线的定制多重比较,还可以将数据和KEGG数据库结合分析代谢路径等。



DuctApe是一个用python编写的数据分析软件,可帮助生物信息学家分析基因组和表型实验数据。该软件将基因组信息(编码为KEGG代谢路径)与表型微阵列(Phenomic Microarrays)的结果相结合,并突出显示可能导致表型变异的基因。



华粤企业集团成立干1991年。经过近30年的发 展壮大,已经成为行业的实验室专业方案提供者和解 决者,茁壮成长为行业内最具规模、最有影响力的公 司之一。

华粤当初以代理销售专业仪器设备为主扩展事 业版图,通过不断整合、发展行业内的专业资源和业 务,从单一的仪器代理进而进军多元化领域,创建自 主品牌,产品涵盖生命科学、微生物、生物制药、生殖 医学、脐血干细胞和细胞治疗、公共安全等领域,并在 国内各大主要省市均设有分公司或服务机构。



各子公司和事业部依托集团公司构建的综合信

息管理平台,共享集团公司优质和丰富的客户资源、市场信息和先进的产品技术;凭着优良的产品线组合,专业的技术和售后 服务团队,经验丰富、充满活力的销售服务团队和保障有力的后勤团队,以诚信务实和追求卓越的经营理念,竭诚为全国各地, 的高校、医疗机构、科研机构、政府部门和相关生产单位的科学家、科研人员、实验室工作者和质检人员等提供最优质的服务和 支持。

秉着"为客户提供最专业、最优质的服务,一切工作以客户为中心"的宗旨,也本着受益于社会、回馈于社会的初衷和振兴 民族工业科技和医疗事业的精神,华粤企业集团将进一步加快和深化公司在生物制药、生殖医学、细胞治疗、微生物以及公共 安全等行业的纵横发展,全面研发和制造中国产品,为行业提供更优质、更专业、更全面、更完善的服务;为人类健康,为中国科 技不断的进步和发展贡献我们应有的力量!



华粤企业集团有限公司 华粤行仪器有限公司

ww.huayueco.com	email: info@huayueco.com
www.maayacco.com	cinali. Illio@ilaayacco.com

广州	广州市番禺区兴南大道483号华粤大厦	电话:020 - 34821111 (50条线)	传真:020 - 34820098	邮编:511442
香港	香港九龙湾宏开道19号健力工业大廈6楼617室	电话:852 - 27703628 (8条线)	传真:852 - 27511904	
北京	北京市朝阳区永安东里甲三号通用国际中心A座11层	电话:010-57917860/56/68/75/79	传真:010-57917851	邮编:100022
上海	上海市黄浦区延安东路175号旺角广场2101-2107室	电话:021-31262111 (10条线)	传真:021-50945180	邮编:200000
杭州	杭州市萧山区钱江世纪城利二苑12幢1单元3201室	电话:0571-28036866/18767150715	传真:0571-28036870	邮编:310000
南京	南京市江东北路418号-30二楼	电话:025-85501220/85501229	传真:025-83220158	邮编:210009
郑州	郑州市经三路68号1号楼平安大厦6006室	电话:0371-69123061	传真:0371-69123061	邮编:450008
西安	西安市碑林区长安北路1号陕西会展国际大厦1650室	电话:13720583958		邮编:710004
南宁	南宁市江南区江南街道星光大道昌耳渌2号	电话:0771-2617365 / 18176212188	传真:0771-2617365	邮编:530022
成都	成都市人民南路四段49号曼哈顿大厦9-21	电话:028-85250313/179/193	传真:028 - 85350748	邮编:610041
武汉	武汉市青山区新沟桥13街105门5号	电话:13971020201		邮编:430077
海口	海口市美兰区大英山东一路7号国瑞城雅仕苑2栋1-3A01	电话:13078909283	传真:0898-66701727	邮编:570203
昆明	昆明市西山区前卫西路未名城A7一幢2005	电话:0871-65328821		邮编:650233
天津	天津市华苑产业区物华道2号B座626室	电话:13702160825		邮编:300192
重庆	重庆市九龙坡区二郎居然之家3栋27-3	电话:18680847671		邮编:400000
青岛	青岛市市北区九江路23号-602	电话:18561307135/18663967817		邮编:266000
新疆	乌鲁木齐市沙依巴克区骑马山路上海紫园4-3-1002	电话:13199808395		邮编:830026
兰州	甘肃省兰州市城关区南滨河路405号	电话:13919391666		邮编:730000