

样本制备

thermo  
scientific

applied  
biosystems

invitrogen



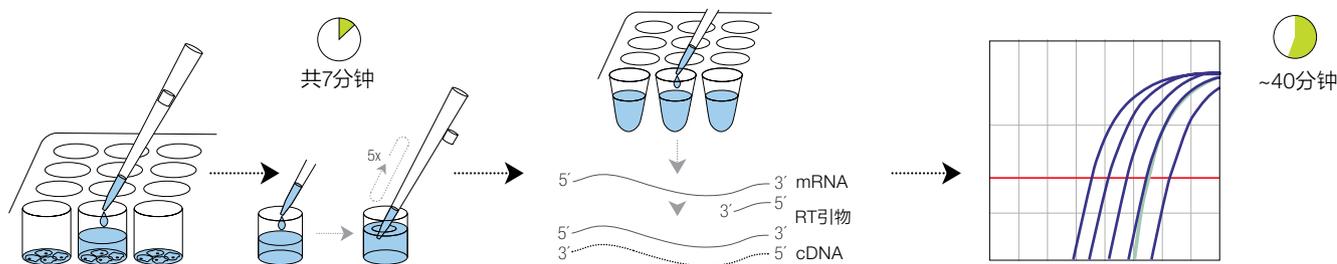
# 加快基因表达检测，无需RNA纯化

Invitrogen Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒

— 更快速且更灵敏地检测基因表达

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

## 基因表达实验流程



### 细胞裂解 + 终止液

1. 吸出培养基。用PBS漂洗细胞。
2. (可选) 在裂解液中稀释DNA酶。
3. 加入裂解液并混合5次。
4. 室温孵育5分钟 (19–25°C)。
5. 加入终止液并混合5次。
6. 室温下孵育2分钟。

### 逆转录

1. 配制RT预混液并分装至反应管或反应板中。
2. 加入裂解液 (至多45%) 并充分混匀。
3. 运行RT热循环仪程序。

### qPCR: TaqMan或SYBR Green分析

1. 配制PCR混合物并分装至反应管或反应板中。
2. 加入cDNA并充分混匀。
3. 在qPCR仪器上运行反应。

## 2步法工作流程

## 第1步

## 第2步

**图1. Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒采用了2步法流程，在细胞裂解后进行逆转录和qPCR。**1步法反应是在单个孔内完成RT和qPCR。在qPCR步骤中，TaqMan分析使用针对每个靶点设计的定制引物和探针组合。它们较采用通用qPCR引物的SYBR Green分析更灵敏且特异。

全新的Invitrogen™ Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>™ 试剂盒利用实时荧光定量RT-PCR (RT-qPCR) 直接从培养的细胞样本中检测相对基因表达，使研究人员能够完全省去RNA纯化步骤。Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒提供TaqMan® 和SYBR™ Green两种形式，提高了灵活性。

这些试剂盒可提供从培养细胞直接进行RT-qPCR分析的完整工作流程，无需RNA纯化。该试剂盒采用独特的方法裂解培养细胞，同时去除基因组DNA (gDNA) 并保持RNA完整性，其包含逆转录 (RT) 试剂用于cDNA合成，以及TaqMan或SYBR Green预混液用于实时荧光定量PCR分析。

### 有两种形式可供选择，提高了灵活性

全新的TaqMan Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒采用了改进的逆转录酶，可以更灵敏地检测高丰度或稀有转录本。这样无需RNA纯化即可直接使用培养细胞进行表达分析。该试剂盒有助于节省时间，提供了适用于少量样本的简单工作流程，也可轻松整合至自动化的高通量应用中。

TaqMan Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒可提供：

- 与早期的TaqMan基因表达Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒相同的专利裂解液和终止液
- 出众的靶点检测特异性
- 极其简单且快速 — 一般在10分钟内完成96个样本的制备用于RT-qPCR
- 无需繁琐的RNA纯化 — 无需使用分离柱、加热、离心或样本转移
- 出众的性能 — 可以从10–100,000个细胞中获得一致的准确性、可重复性和灵敏度
- 已经过验证的优质试剂盒工作流程 — 已经过预先优化的全套高效试剂，即取即用
- 超过200万种预设计分析，几乎可检测任何基因产物
- 经济实惠的分析，几乎涵盖了RefSeq数据库中的人、小鼠和大鼠的每个基因
- 覆盖28个种属以及一些病原体

全新的SYBR Green Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒采用了一种快速、简单且可靠的方法，直接从培养细胞中获取实时荧光定量PCR结果。这种成熟的细胞裂解和RNA稳定技术省去了耗时费力的RNA纯化过程。该试剂盒采用Applied Biosystems™ AmpliTaq Gold™ DNA聚合酶, LD (低DNA), 可提供最高水平的标准实时荧光定量PCR特异性。

SYBR Green Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒可提供：

- 与早期的TaqMan基因表达Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒相同的专利裂解液和终止液
- 较高的靶点检测特异性
- 极其简单且快速 — 一般在10分钟内完成96个样本的制备用于RT-qPCR
- 无需繁琐的RNA纯化 — 无需使用分离柱、加热或离心
- 出众的性能 — 可以从10–100,000个细胞中获得一致的准确性、可重复性和灵敏度
- 已经过验证的高效试剂盒工作流程 — 已经过预先优化的全套高效试剂，即取即用

### 在更短的时间内获得更高的灵敏度

Cells-to-C<sub>T</sub>终止液可以增加下游RT和qPCR反应的样本量，极大地提高了稀有靶点检测的灵敏度。TaqMan和SYBR Green Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒均使用终止液，采用极其快速的工作流程，提供了极佳的灵敏度。这些试剂盒较绝大多数高通量的RNA纯化试剂盒快约48倍。Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒可以一次处理96或384个孔；一块96或384孔板的实验流程仅需10分钟。其他供应商产品的工作流程使用较低的pH和稀释度，限制了下游步骤中可以使用的细胞裂解液的量。

### 基因表达实验流程比较

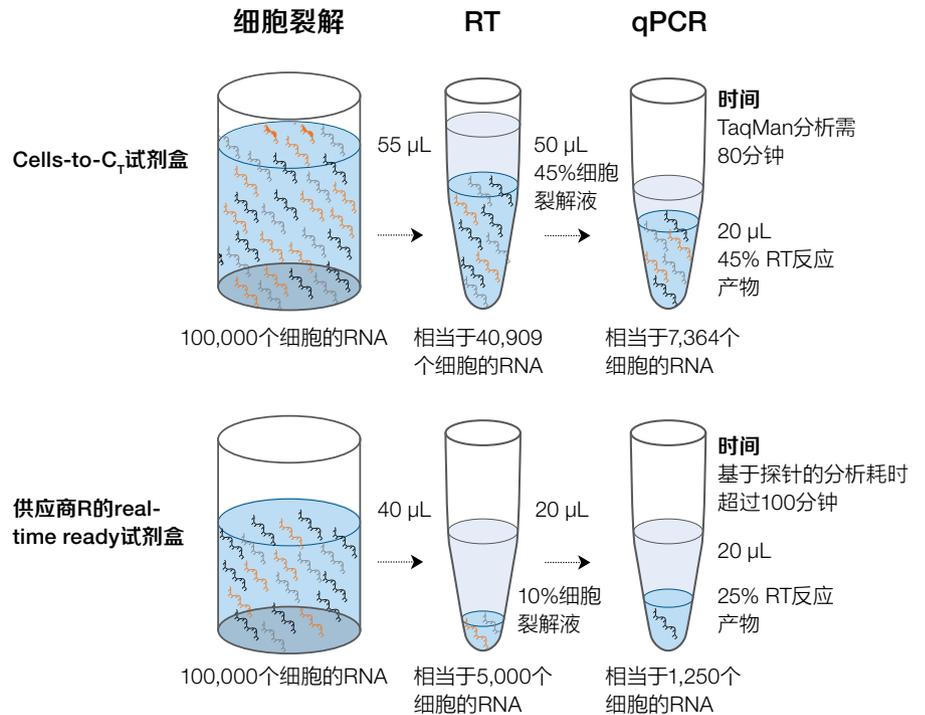


图2. 工作流程中每个步骤的裂解液或RT反应产物体积。

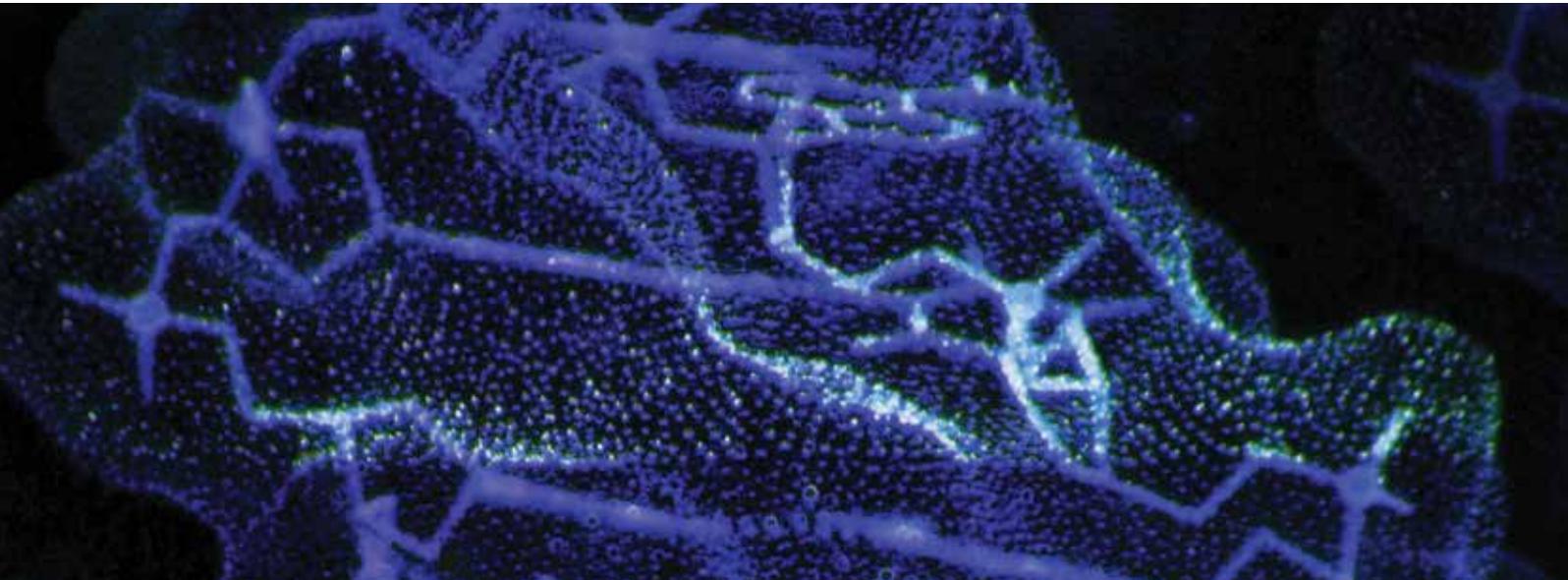


表1. 哪种实时荧光定量试剂适合您?

	Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒 (1步法)		Fast Advanced Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒 (2步法)	
完整的工作流程	裂解 → RT → qPCR			
Cells-to-C <sub>T</sub> 裂解、DNA酶和终止液	有			
检测试剂	SYBR Green形式*	TaqMan形式**	SYBR Green形式*	TaqMan形式**
获得结果的时间	120分钟	120分钟	95分钟	80分钟
样本量	10–100,000个细胞	10–100,000个细胞	10–100,000个细胞	10–100,000个细胞
特异性	中等†	高	中等†	高
灵敏度 (加入qPCR反应的样本的最高百分比)	10%裂解液	10%裂解液	13.5%裂解液	20%裂解液
可重复性	中等†	高	中等†	高
多重分析		✓		✓
预设计分析		✓		✓
一般需要用户设计、实验优化	✓		✓	
基因表达	低水平定量	高水平定量	低水平定量	高水平定量
应用	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 基因表达</li> <li>• DNA定量 (病原体检测)</li> <li>• CHIP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 基因表达</li> <li>• DNA定量</li> <li>• CHIP</li> <li>• SNP基因分型</li> <li>• 拷贝数变异</li> <li>• 通路分析</li> <li>• microRNA和小RNA</li> <li>• 突变检测</li> <li>• 多重分析</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 基因表达</li> <li>• DNA定量</li> <li>• CHIP</li> <li>• SNP基因分型</li> <li>• 拷贝数变异</li> <li>• 通路分析</li> <li>• microRNA和小RNA</li> <li>• 突变检测</li> <li>• 多重分析</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 基因表达</li> <li>• DNA定量</li> <li>• CHIP</li> <li>• SNP基因分型</li> <li>• 拷贝数变异</li> <li>• 通路分析</li> <li>• microRNA和小RNA</li> <li>• 突变检测</li> <li>• 多重分析</li> </ul>
试剂	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SYBR Green引物</li> <li>• SYBR Green预混液</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TaqMan分析试剂</li> <li>• TaqMan预混液</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SYBR Green引物</li> <li>• SYBR Green预混液</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• TaqMan分析试剂</li> <li>• TaqMan预混液</li> </ul>

\* 基于SYBR Green的检测采用SYBR Green染料 (dsDNA结合染料) 来检测PCR过程中积聚的PCR产物。

\*\* 基于TaqMan的检测使用目的基因特异性的荧光探针来检测PCR过程中积聚的靶点。

† 基于SYBR Green的分析需要设计并验证引物, 以确保特异性。特异性和可重复性取决于模板质量及引物设计和优化。

# 选择适当的试剂盒

在下列情况下，您可以选择1步法试剂盒：

- 有许多样本，样本有一个或多个靶点
- 不保存cDNA
- 使用移液机器人

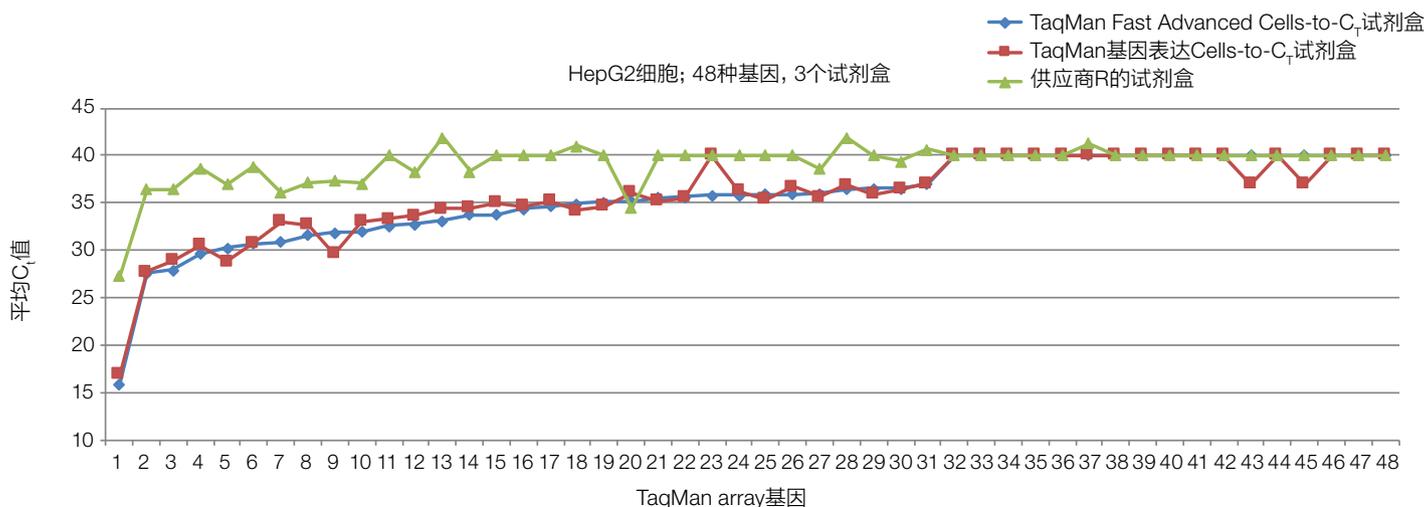
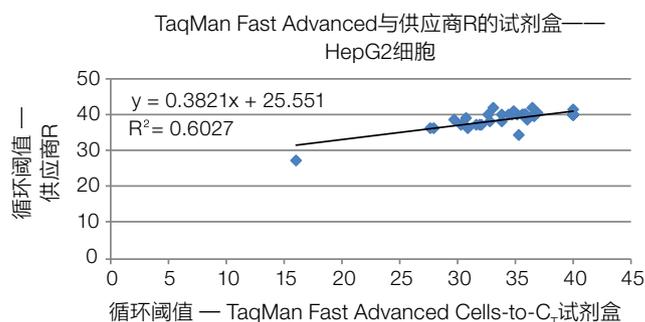
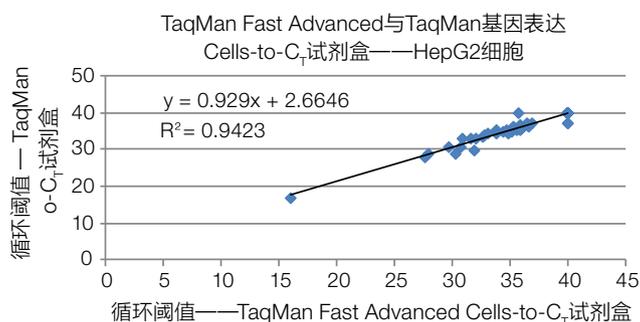
在下列情况下，您可以选择2步法试剂盒：

- 您需要更高的灵敏度检测稀有转录本
- 可以长期保存cDNA
- 定量cDNA中的多个靶点
- 使用移液机器人

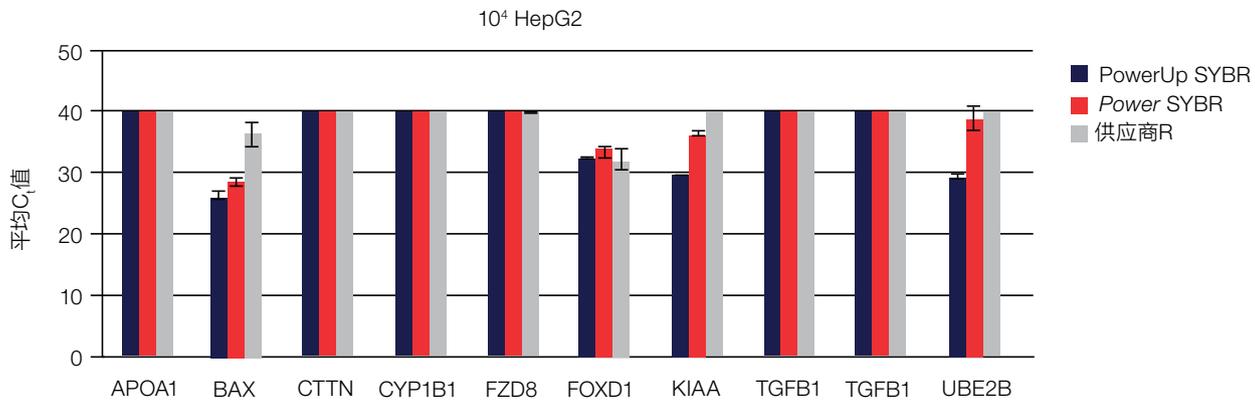
## 无需RNA纯化且不影响性能

Fast Advanced Cells-to-C<sub>T</sub> 2步法试剂盒较传统RNA纯化方法更快速、更方便，且不影响灵敏度。由于Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒工作流程是基于裂解液的，因此无任何RNA损失。在传统的RNA纯化中，由于过滤器或磁珠洗脱不充分，始终会有少量RNA损失。因此，相比使用RNA纯化流程处理的样本，采用Cells-to-

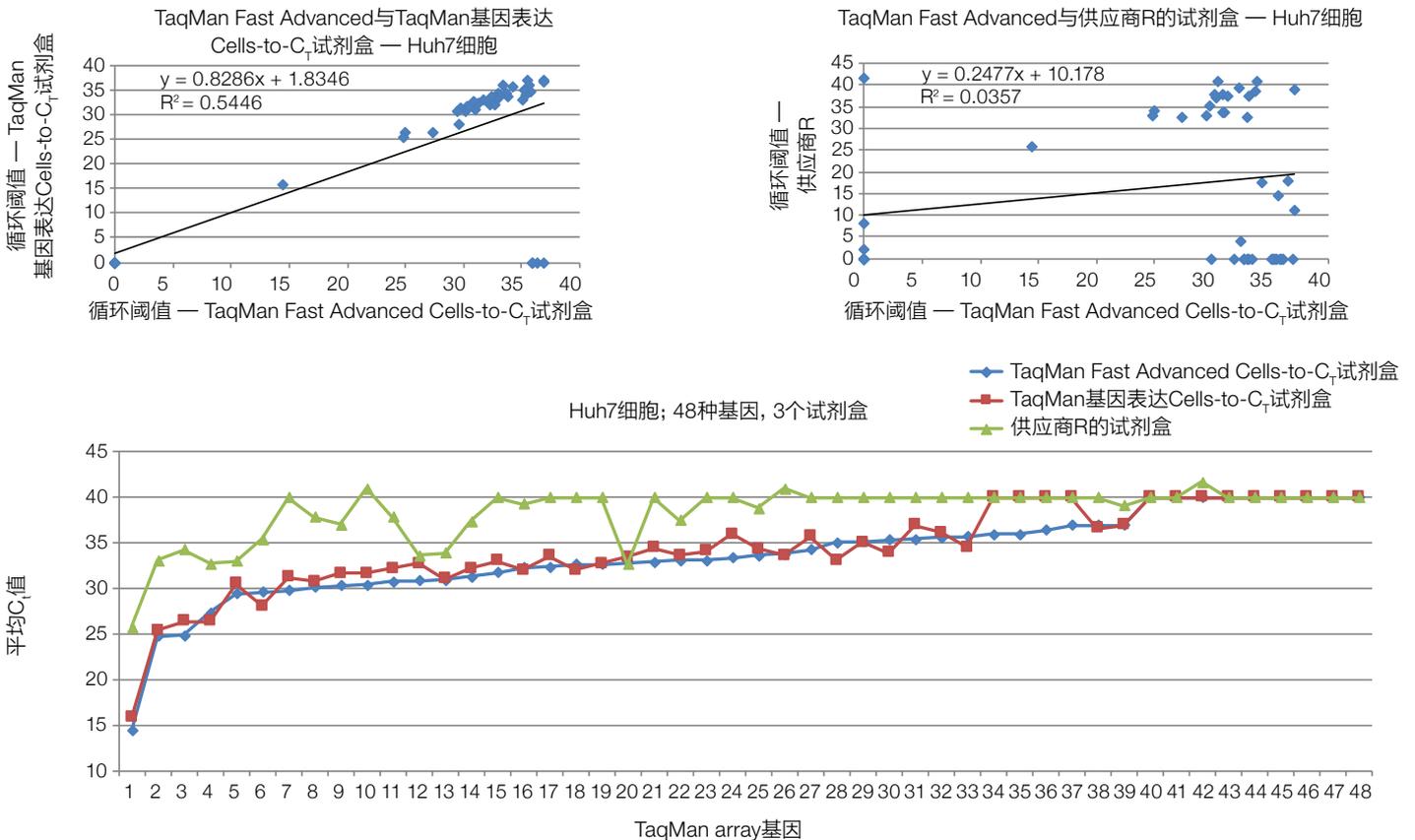
C<sub>T</sub>试剂盒处理时，其检测低细胞水平的样本（10–1,000）中的稀有RNA的能力更高。此外，结合终止液的优点，Cells-to-C<sub>T</sub>工作流程的灵敏度高于竞争厂商的试剂盒，可用于检测高丰度及低拷贝数的转录本。



**图3. 相比其他试剂盒的灵敏度。遵照各试剂盒实验方案裂解10<sup>4</sup>个细胞。在每种试剂盒的RT中加入最高量的裂解液 (Cells-to C<sub>T</sub>和Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒为45%；其他供应商的产品为10%)。然后将25% RT产物加入TaqMan磷酸二酯酶TaqMan Array的qPCR反应中，使用各试剂盒中的qPCR预混液。Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒较早期的Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒平均低0.5 C<sub>T</sub>，较其他供应商的试剂盒低3.6 C<sub>T</sub>（灵敏度较其他供应商高11倍）。**



**图4. 检测比较。**遵照各试剂盒实验方案裂解10<sup>4</sup>个HepG2细胞。在每种试剂盒的RT中加入最高量的裂解液 (Cells-to C<sub>T</sub>和Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒为45%；其他供应商的产品为10%)。然后在其他供应商试剂盒的qPCR反应中加入25%的RT产物；在Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒的qPCR反应中加入30%，在Power SYBR试剂盒中加入45%。分析10种不同基因。该细胞系中的大部分基因未检测。在大部分的检测基因中，Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒的C<sub>T</sub>值低于其他试剂盒。



**图5. 遵照各试剂盒实验方案裂解10<sup>4</sup>个细胞。**在每种试剂盒的RT中加入最高量的裂解液 (早期的Cells-to C<sub>T</sub>和Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒为45%；其他供应商的产品为10%)。然后将25% RT产物加入磷酸酯酶TaqMan Array的qPCR反应中，使用各试剂盒中的qPCR预混液。结论：Fast Advanced Cells-to C<sub>T</sub>试剂盒较早期的Cells-to-C<sub>T</sub>试剂盒平均低0.7 C<sub>T</sub>，较其他供应商的试剂盒低4.7 C<sub>T</sub>。这表示Fast Advanced试剂盒的灵敏度较其他供应商的试剂盒高14倍。

如需了解如何实现Cells-to-C<sub>T</sub>工作流程自动化，请登录 [thermofisher.com/autocellstoct](http://thermofisher.com/autocellstoct)

## 适用于您的实验流程方案的实时荧光定量PCR应用

为帮助您在不同的应用中获得最佳结果，我们还提供了实时荧光定量PCR仪器方案，用于您的实验流程。实时荧光定量PCR可用于核酸靶点的灵敏且特异性的检测和定量。我们已经开发出了功能强大的分析设计算法、优化的预混液、直观的数据分析软件和灵活的仪器，帮助您将qPCR应用于各个不同的领域。探索qPCR研究解决方案。

如需了解更多信息，请登录[thermofisher.com/quantstudioqpcrfamily](http://thermofisher.com/quantstudioqpcrfamily)

# 哪款仪器符合您的需要？

## QuantStudio实时荧光定量PCR和数字PCR系统

主要特点：	极致简便	完全控制	更多空间	更加灵活	最大产出
	QuantStudio 3实时定量PCR 系统	QuantStudio 5实时定量PCR系统	QuantStudio 6 Flex实时定量PCR系统	QuantStudio 7 Flex实时定量PCR系统	QuantStudio 12 Flex实时定量PCR系统
<b>Real-time PCR</b>					
					
颜色	4 色	5或6色 (结合21 滤光片)	5色	6色 (结合21 滤光片)	6色 (结合21 滤光片)
加热模块形式*	96孔0.2 mL 快速96孔 0.1ml	96孔0.2 mL 快速96孔 0.1ml 384孔	96孔 快速96孔 384孔	96孔 快速96孔 384孔 Taqman array 卡 (384微流卡)	96孔 快速96孔 384孔 Taqman array 卡 (384微流卡) OpenArray板 (3072)
尺寸	27 x 50 x 40 cm	27 x 50 x 40 cm	90.7 x 74.7 x 12.5 cm	90.7 x 74.7 x 12.5 cm	90.7 x 74.7 x 12.5 cm
模块可变	固定的	固定的	无需工具,从前部更换模块,耗时小于1分钟		
VeriFlex温度控制	3区	6区 (只有96孔模块)	N/A	N/A	N/A
兼容自动化	不兼容	不兼容	不兼容	兼容	兼容
高通量水平	中等	中等	中等	高	非常高
21 CFR Part 11-适用	安全	安全性, 审计, 电子签名包	可选安全性, 审计, 可用电子签名包		
触摸屏	是的, 互动	是的, 互动	是的	是的	是的
主要应用	<ul style="list-style-type: none"> <li>基因表达</li> <li>miRNA展示</li> <li>SNP分型</li> <li>拷贝数变异</li> <li>蛋白热转移</li> <li>高分辨熔解</li> <li>病理检测</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>基因表达</li> <li>miRNA展示</li> <li>SNP分型</li> <li>拷贝数变异</li> <li>蛋白热转移</li> <li>高分辨熔解</li> <li>病理检测</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>基因表达</li> <li>miRNA展示</li> <li>SNP分型</li> <li>拷贝数变异</li> <li>蛋白热转移</li> <li>高分辨熔解</li> <li>病理检测</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>基因表达</li> <li>miRNA展示</li> <li>SNP分型</li> <li>拷贝数变异</li> <li>蛋白热转移</li> <li>高分辨熔解</li> <li>病理检测</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>基因表达</li> <li>miRNA展示</li> <li>SNP分型</li> <li>拷贝数变异</li> <li>蛋白热转移</li> <li>高分辨熔解</li> <li>病理检测</li> <li>药物基因组学</li> </ul>

\* 一些仪器还提供用于诊断的产品。 登陆[thermofisher.com/qsdx](http://thermofisher.com/qsdx)了解更多。

 = 云存储仪器。

## 订购信息

产品	规格	货号
TaqMan Fast Advanced Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒	40次反应	A35374
	100次反应	A35377
	400次反应	A35378
SYBR Green Fast Advanced Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒	40次反应	A35379
	100次反应	A35380
	400次反应	A35381
Fast Advanced Cells-to-C <sub>T</sub> 大包装RT试剂	2,500次反应	A39110
Cells-to-C <sub>T</sub> 大包装裂解试剂	2,500次反应	4391851C
Cells-to-C <sub>T</sub> 1-Step TaqMan试剂盒	20次反应	A25605
	100次反应	A25603
	400次反应	A25602
TaqMan基因表达Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒	40次反应	4399002
	100次反应	AM1728
	400次反应	AM1729
TaqMan MicroRNA Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒	100次反应	4391848
	20次反应	A25601
Cells-to-C <sub>T</sub> 1-Step Power SYBR Green试剂盒	100次反应	A25600
	400次反应	A25599
	40次反应	4402953
Power SYBR Green Cells-to-C <sub>T</sub> 试剂盒	100次反应	4402954
	400次反应	4402955
	50次反应	4458237
Single Cell-to-C <sub>T</sub> RT-qPCR试剂盒	400次反应	4458236
	1 mL	4402960
Cells-to-C <sub>T</sub> 终止液	1 mL	4402960
用于qPCR的稳定化Blood-to-C <sub>T</sub> 核酸制备试剂盒 (可与PAXgene或Tempus血液RNA管同时使用)	50次反应	4449079
用于qPCR的稳定化Blood-to-C <sub>T</sub> 核酸制备试剂盒(可与PAXgene血液RNA管同时使用)	200次反应	4449082
用于qPCR的稳定化Blood-to-C <sub>T</sub> 核酸制备试剂盒(可与Tempus血液RNA管同时使用)	200次反应	4449080
SYBR Green Cells-to-C <sub>T</sub> 对照试剂盒	100次反应	4402959
QuantStudio 3实时荧光定量PCR系统, 96孔, 0.2 mL, 台式电脑	1台	A28572
QuantStudio 5实时荧光定量PCR系统, 96孔, 0.2 mL, 台式电脑	1台	A28574
QuantStudio 6 Flex实时荧光定量PCR系统, 96孔快速, 台式电脑	1台	4485697
QuantStudio 7 Flex实时荧光定量PCR系统, 96孔快速, 台式电脑	1台	4485693
QuantStudio 12K Flex实时荧光定量PCR系统, 96孔快速加热模块, 台式电脑	1台	4471088
TaqMan Fast Advanced预混液	1 x 5 mL	4444557
PowerUp SYBR Green预混液	5 mL	A25742

如需了解更多信息, 请登录 [thermofisher.com/cellstoc](https://thermofisher.com/cellstoc)



赛默飞  
官方微信



赛默飞  
生命科学官方微信

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982

信息咨询邮箱: [cnbidmarketing@thermofisher.com](mailto:cnbidmarketing@thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC