

# SuperScript IV VILO预混液可实现最佳RT-qPCR

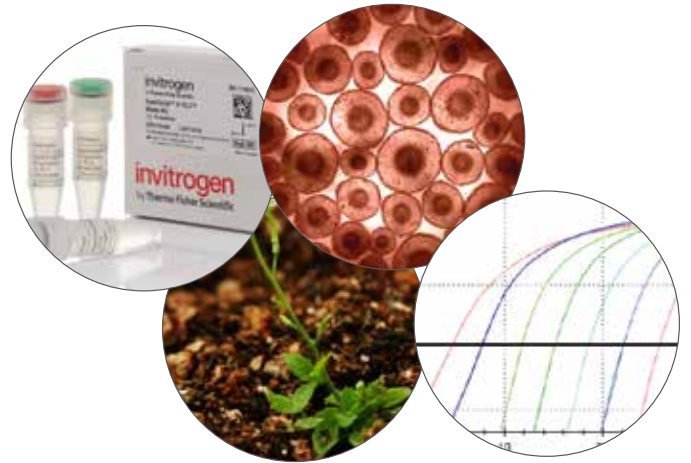
## 摘要

Invitrogen™ SuperScript™ 产品系列提供了市场领先的逆转录酶 (RT), 可实现质量最高且最可靠的cDNA合成。该系列中最新的酶产品——Invitrogen™ SuperScript™ IV RT是一种热稳定的酶, 即便用于难以处理的RNA样本, 亦可保持高合成能力和高灵敏度。全新的Invitrogen™ SuperScript™ IV VILO™ 预混液是一种第一链cDNA合成预混液, 它可以在两步法逆转录定量PCR (RT-qPCR) 中实现可变的RNA输入、线性的cDNA输出。在本研究中, 我们比较了SuperScript IV VILO预混液和目前的Invitrogen™ SuperScript™ VILO™ 预混液以及其他商品化的cDNA合成产品在各种RT-qPCR应用中的结果。结果显示, SuperScript IV VILO预混液用于难以处理的RNA样本时, 可提供最高的产量、最快的反应速度、更高的灵敏度和更佳的性能, 同时可在较大的起始RNA范围内保持高线性度和低差异, 使得研究人员可以高度信赖其获得的RT-qPCR结果。

## 简介

尽管标准RT酶如莫洛尼鼠白血病病毒 (M-MLV) RT酶的特性足以满足基本的逆转录应用, 但这些酶无法提供较高的产量、灵敏度、速度、热稳定性, 以及对难以处理的RNA样本的耐受性。在RT-qPCR应用中, RT酶不是获得可靠结果的唯一考虑因素; 用于cDNA合成的试剂盒形式亦十分重要。例如, 单管预混液减少了移液步骤和样本操作, 可降低污染问题, 提高可重复性。优化的预混液和稳定的RT酶可提升RT-qPCR数据的一致性, 从而减少重复试验的次数。

已有的SuperScript VILO预混液可以降低对不同RNA起始量的RT-qPCR分析的不一致性; 但是, 该预混液用于更难以处理的RNA样本时效果不佳, 且无法提供快速反应时间。SuperScript IV RT (查看[白皮书](#)) 是一种全新的酶, 反应时间极短, 灵敏度更高, 用于更难以处理的RNA样本 (降解或含有抑制剂的样



本) 时效果极佳。我们在此介绍了将SuperScript IV RT和使用方便的5X VILO预混液结合用于两步法RT-qPCR中的第一链cDNA合成时的优势。在基因组DNA (gDNA) 污染问题上, 含有ezDNase™ 酶的Invitrogen™ SuperScript™ IV VILO™ 预混液可以选择性去除gDNA。ezDNase酶是一种双链DNA特异性的全新DNA酶, 可提供一种在cDNA合成前从RNA样本中去除gDNA的最快速且最温和的方法。本文的结果说明, 相比SuperScript VILO预混液及其他商品化的cDNA合成预混液, SuperScript IV VILO预混液与Applied Biosystems™ TaqMan® 和 SYBR™ Green qPCR Assay结合使用, 可提供最佳的线性度、速度、灵敏度以及对难以处理的RNA样本的耐受性。鉴于其出众的特性, SuperScript IV VILO预混液是cDNA合成的最佳选择, 有助于确保获得最准确且最可靠的RT-qPCR结果。

表1. 不同供应商提供的逆转录反应组分和反应条件。

产品	需要混合的独立预混液组分的数量 (除RNA和水)	引物	反应体系	反应循环数	总cDNA合成反应时间
SuperScript IV VILO预混液	1 (5X预混液)	随机引物、oligo(dT) 引物	5X预混液、RNA、水	25°C 10分钟、50°C 10分钟、85°C 5分钟	25分钟
含有ezDNase酶的SuperScript IV VILO预混液	3 (ezDNase 酶、ezDNase缓冲液、5X预混液)	随机引物、oligo(dT) 引物	ezDNase酶、ezDNase缓冲液、RNA、水 (2分钟, 37°C); 加入5X预混液	37°C 2分钟、25°C 10分钟、50°C 10分钟、85°C 5分钟	27分钟
SuperScript VILO预混液	1 (5X预混液)	随机引物	5X预混液、RNA、水	25°C 10分钟、42°C 50分钟、85°C 5分钟	65分钟
供应商1	1 (5X预混液)	随机引物、oligo(dT) 引物	5X预混液、RNA、水	25°C 5分钟、42°C 20分钟、95°C 1分钟	26分钟
供应商2	1 (5X预混液)	随机引物、oligo(dT) 引物	5X预混液、RNA、水	25°C 10分钟、42°C 60分钟、85°C 5分钟	75分钟
供应商3	4 (随机引物、oligo(dT) 引物、2X反应混合物、10X酶混合物)	随机引物、oligo(dT) 引物	随机引物、oligo(dT) 引物、RNA、水 (65°C 5分钟); 加入反应和酶混合物	65°C 5分钟、冰上<1分钟、42°C 60分、80°C 5 分钟	70分钟
供应商4	7 (oligo(dT) 引物、随机引物、5X反应缓冲液、MgCl <sub>2</sub> 、PCR核苷酸混合物、RNA酶抑制剂、RT酶)	随机引物、oligo(dT) 引物	随机引物、oligo(dT) 引物、RNA、水 (70°C 5分钟); 加入水、5X反应缓冲液、MgCl <sub>2</sub> 、PCR核苷酸混合物、RNA酶抑制剂、RT酶	70°C 5分钟、冰上5分钟、25°C 5分钟、42°C 60分钟、70°C 15分钟	90分钟
供应商5	4 (第一链2X预混液、oligo(dT) 引物、随机引物、RT/RNA酶混合物)	随机引物、oligo(dT) 引物	第一链2X预混液、oligo(dT) 引物、随机引物、RT/RNA酶混合物、RNA、水	25°C 5分钟、42°C 15分钟、95°C 5分钟	25分钟
供应商6	4 (7X gDNA缓冲液、RT酶混合物、5X RT缓冲液、RT引物混合物)	未标定	gDNA缓冲液、RNA、水 (42°C 2分钟); 加入RT酶混合物、5X RT缓冲液、RT引物混合物	42°C 2分钟、冰上<1分钟、42°C 15分钟、95°C 3 分钟	20分钟
供应商7	2 (20X RT酶、5X缓冲液)	未标定	5X缓冲液、RT酶、RNA、水	25°C 5分钟、55°C 10分钟、85°C 5分钟	20分钟
供应商8	1 (5X预混液)	随机引物、oligo(dT) 引物	5X预混液、RNA、水	25°C 5分钟、42°C 30分钟、85°C 5分钟	40分钟
供应商9	1 (5X预混液)	随机引物、oligo(dT) 引物	5X预混液、RNA、水	37°C 15分钟、85°C 5秒	15分钟
供应商10	3 (5X预混液、DNA酶、DNA酶缓冲液)	随机引物、oligo(dT) 引物	DNA酶缓冲液、DNA酶、RNA、水 (25°C 5分钟; 75°C 5分钟); 加入5X预混液	25°C 5 分钟、75°C 5 分钟、25°C 5 分钟、46°C 20 分钟、95°C 1 分钟、	36 分钟

## 材料与amp;方法

- SuperScript IV VILo预混液 (货号: 11756050)
  - 组分: SuperScript IV VILo预混液 (5X), SuperScript IV VILo预混液无RT对照, 无核酸酶水
- 含有ezDNase酶的SuperScript IV VILo预混液 (货号: 11766050)
  - 组分: SuperScript IV VILo预混液 (5X), SuperScript IV VILo预混液无RT对照, ezDNase酶, ezDNase缓冲液 (10X), 无核酸酶水

## RNA纯化

参照标准实验方案, 使用Invitrogen™ PureLink™ RNA小量提取试剂盒 (货号: 12183018A) 从冷冻的人肺组织中抽提RNA并纯化。利用Thermo Scientific™ NanoDrop™ 分光光度计定量总RNA。使用Bio-Rad™ Experion™ 自动化电泳系统, 采用溴化乙锭染色进行琼脂糖凝胶电泳, 评估RNA的质量。

## 含有抑制剂的RNA制备

为分析抑制剂对逆转录的影响, 我们在Invitrogen™ 宫颈癌 (HeLa-S3) 总RNA (货号: AM7852) 中预先混合下列抑制剂: LiCl、Invitrogen™ TRIzol™ 试剂、SDS、肝素和血红素。逆转录反应中各种抑制剂的最终浓度如结果部分所示。

## 使用DNA酶去除gDNA

要测定gDNA去除效率, 我们将100 ng人gDNA (非商品化) 加入250 ng HeLa总RNA中, 然后使用Invitrogen™ ezDNase酶 (货号: 11766051) 或扩增级Invitrogen™ DNase I (货号: 18068015) 进行处理。对于ezDNase酶, 将RNA/DNA混合物置于37°C孵育2分钟, 10 μL反应中加入2 U的ezDNase酶和ezDNase缓冲液。孵育后, 将样本直接加入逆转录反应中。对于DNase I, 将RNA/DNA混合物置于37°C孵育20分钟, 10 μL反应中加入1 U的DNase I和反应缓冲液, 随后加入EDTA, 65°C灭活10分钟。要评估RT-qPCR反应中DNA酶对RNA完整性的影响, 我们使用ezDNase或DNase I酶预处理100 ng HeLa总RNA, 然后稀释并在双份重复的逆转录反应中用做起始样本。

## 逆转录

参照各供应商的说明, 使用SuperScript IV VILo预混液 (货号: 11756050)、含有ezDNase酶的SuperScript IV VILo预混液 (货号: 11766050) 或其他供应商的cDNA合成产品进行20 μL的逆转录反应 (表1)。在MJ Research热循环仪、Applied Biosystems™ ProFlex™ PCR系统或Applied Biosystems™ GeneAmp™ PCR 9700系统上进行第一链合成反应。

## TaqMan和SYBR Green qPCR Assay

接着利用qPCR及靶向不同基因靶点 (如图所示) 的引物组 (使用TaqMan或SYBR Green Assay) 检测优化第一链cDNA合成条件的全部参数。利用Applied Biosystems™ ViiA™ 7实时荧光定量PCR系统 (货号: 4453536), 使用表2所示的默认循环实验方案定量样本。通用型Invitrogen™ EXPRESS qPCR Supermix (货号: 1178501K) 用于TaqMan Assay, 通用型Invitrogen™ EXPRESS SYBR™ GreenER™ qPCR SuperMix (货号: 1178401K) 用于SYBR Green Assay。SuperScript IV VILo预混液无RT对照用作阴性对照。

参照用户手册组装逆转录反应, 在推荐的cDNA合成条件下运行。之后, 取一定体积的逆转录反应物 (相对于10%的qPCR反应体积) 加入TaqMan Assay。对于SYBR Green分析, 根据起始总RNA数量的不同 (例如, 96靶点检测板1 μg), 需要先用1:10稀释cDNA, 然后加入10%的qPCR体积。对于gDNA去除实验, 以1:50稀释RT样本, 然后进行qPCR。对于RNA完整性实验, 使用1:100,000稀释的真核细胞18S rRNA靶点的cDNA。图中所示的C<sub>t</sub>值已经过标准化。

**表2. 使用TaqMan和SYBR Green Assay的qPCR循环实验方案。**

温度	时间	步骤*	循环
50°C	2分钟	UDG孵育	1
95°C	2分钟	聚合酶活化	1
95°C	15秒	变性	40
60°C	1分钟	退火/延伸	

\* 在所有SYBR Green qPCR反应结束后运行解离曲线。

## 结果和讨论

### 在较宽的起始RNA动态范围内获得高线性度

VILO™ 技术的特征是能够利用RT-qPCR准确地检测不同的总RNA起始量中的低拷贝靶点及高拷贝靶点。要检测SuperScript IV VILO预混液是否也可以将RNA线性转录为cDNA, 我们使用1µg至10pg的起始HeLa RNA比较SuperScript IV VILO预混液与SuperScript VILOPre混液的性能。使用SuperScript IV VILO预混液的反应可以在整个起始RNA范围内保持高线性度 (包括高丰度靶点和低丰度靶点) (图1)。对于更高丰度的靶点GAPDH (图1A), 使用SuperScript IV VILO预混液的反应斜率为-3.3, 效率为102.1%,  $R^2$ 为0.994,  $C_t$ 值低于使用SuperScript VILOPre混液的反应。在靶向较低丰度的靶点PolE (图1B) 的TaqMan Assay中, SuperScript IV VILO预混液的斜率为-3.36, 效率为98.6%,  $R^2$ 为0.990, 所有起始RNA条件下的 $C_t$ 值均与使用SuperScript VILOPre混液的 $C_t$ 值相当或更低。总之, 上述结果说明两种预混液均具有极佳的线性度, 使用SuperScript IV VILO预混液可以获得比目前的SuperScript VILOPre混液更高的产量。

### 即便是在更高的反应温度下, cDNA的产量和速度亦优于其他商品化的试剂盒

SuperScript IV VILO预混液中的SuperScript IV RT具有高合成能力, RT反应步骤只需10分钟即可完成。其他一些商品化的RT混合物的实验方案也相对较短 (少于25分钟), 但较短的总反应时间无法保证可以获得更高的产量。将SuperScript IV VILO预混液与SuperScript VILOPre混液及其他9种商品化的cDNA合成试剂盒相比较, 对于TaqMan Assay中的14个靶点, 使用1ng HeLa总RNA, SuperScript IV VILO预混液可以提供最高的cDNA产量 (图2, 标准化的倍数变化 =  $2^{-(C_t \text{ SuperScript IV VILO预混液} - C_t \text{ 其他产品})}$ )。这说明, 使用SuperScript IV VILO预混液只需10分钟即可获得最高的cDNA产量。

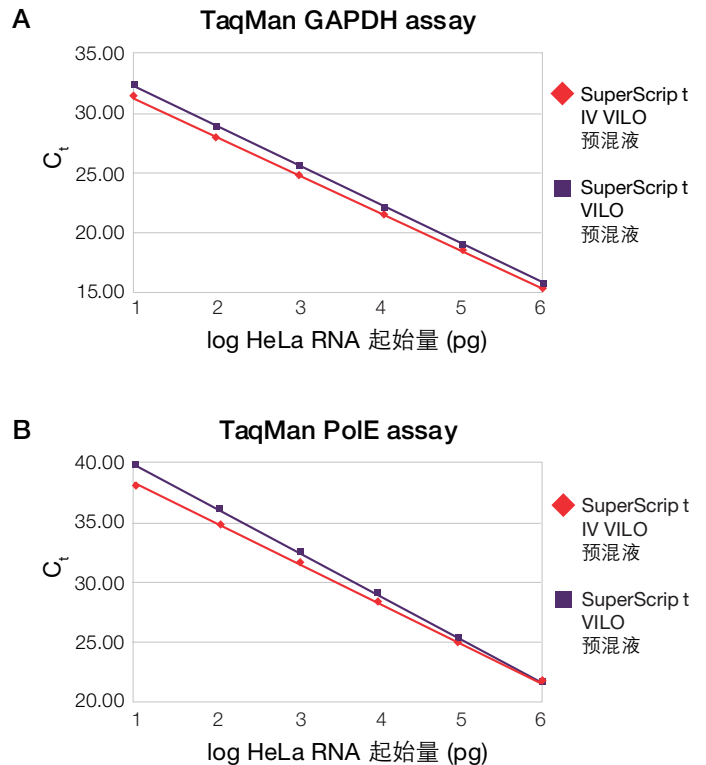


图1. SuperScript IV VILO预混液在不同的HeLa总RNA起始量范围内的线性度 (用于高丰度 (A) 和低丰度 (B) 基因靶点)。

提高逆转录反应温度通常被推荐用于减少生成可干扰某些靶点cDNA合成的RNA二级结构 (如富含GC的靶点)。但是, 提高反应温度会降低RT酶的稳定性, 从而降低总cDNA产量。要确定提高反应温度对RT酶效率的影响, 我们使用几种不同的反应时间 (10分钟、20分钟、60分钟) 和温度 (42°C、50°C和55°C) 对SuperScript IV VILO预混液、SuperScript VILOPre混液

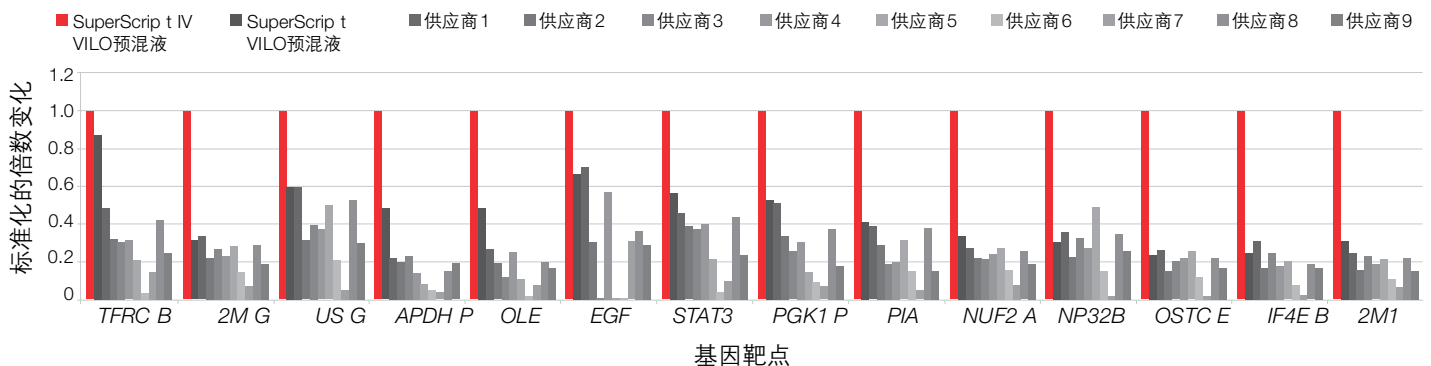


图2. 使用SuperScript IV VILO预混液可以获得较其他商品化试剂盒更高的cDNA产量。

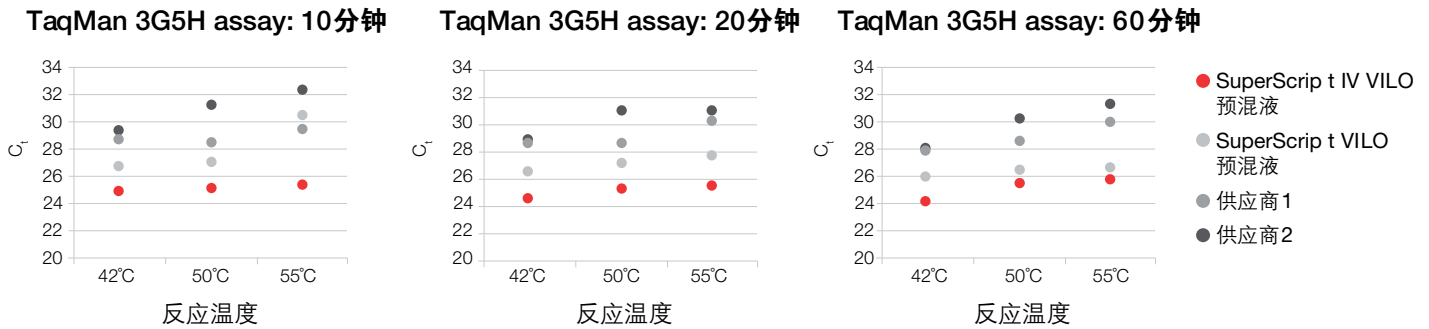


图3. SuperScript IV VILO预混液的热稳定性高于其他商品化试剂盒。

液和其他两家供应商的预混液进行比较 (图3)。当反应温度提高到55°C, 其他预混液的 $C_t$ 值明显增加, 说明这些RT酶对高温的耐受性低于SuperScript IV VILO预混液。在所有检测的时间和温度下, SuperScript IV VILO预混液的平均 $C_t$ 值一直保持在 $25.26 \pm 0.48$ , 而SuperScript VILO预混液的平均 $C_t$ 值为 $27.24 \pm 1.28$ , 第一家供应商的产品为 $29.04 \pm 0.76$ , 第二家供应商的产品为 $30.53 \pm 1.31$ 。这些数据表明, SuperScript IV VILO预混液有助于确保在最短的时间内获得最高的cDNA产量, 即便提高反应温度亦可。

#### 低差异性和高灵敏度

通过使用预混液减少操作步骤并提高通量, 可以降低由逆转录步骤引起的RT-qPCR数据的差异性。但是, 预混液配方必须足够稳健, 在技术和生物学重复样本中保持一致的cDNA产量, 以获得最佳的数据可重复性。要研究使用不同的cDNA合成试剂盒进行两步法RT-qPCR获得的cDNA产量的差异性, 我们使用SuperScript IV VILO预混液、SuperScript VILO预混液或其他供应商的产品对100 pg HeLa总RNA进行10次逆转录反应。使用TaqMan GAPDH或PoIE Assay, 每次逆转录反应重复三次qPCR反应。对使用每种预混液检测GAPDH靶点

的30个累积RT-qPCR数据点进行分析, 相比使用SuperScript VILO预混液 ( $29.16 \pm 0.33$ ) 和其他供应商的产品 ( $30.41 \pm 0.26$ ), 使用SuperScript IV VILO预混液的反应具有最低的平均 $C_t$ 值, 且标准差相当 ( $28.10 \pm 0.30$ ) (图4A)。相同的PoIE靶点的RT-qPCR分析显示, 相比使用SuperScript VILO预混液 ( $36.20 \pm 0.58$ ) 和其他供应商的产品 ( $37.35 \pm 0.55$ ), 使用SuperScript IV VILO预混液的反应具有最低的平均 $C_t$ 值和标准差 ( $34.05 \pm 0.40$ ) (图4B)。这些数据说明, 除较高的灵敏度、速度和热稳定性外, 使用SuperScript IV VILO预混液的反应还非常稳健且差异性极低, 可以获得高度可靠的RT-qPCR结果。

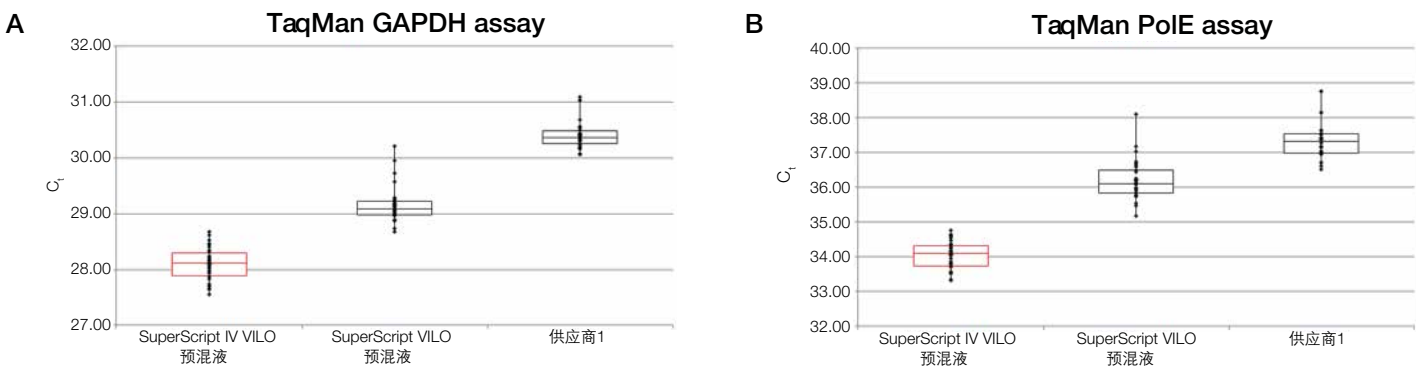


图4. 使用SuperScript IV VILO预混液和其他商品化的试剂盒在 (A) GAPDH 和 (B) PoIE TaqMan Assay中的Assay差异性和灵敏度。

## C<sub>t</sub>值较其他商品化的试剂盒更低

已报道的cDNA合成预混液的改进通常仅限于一小部分靶点和RT-qPCR应用。要检查SuperScript IV VILO预混液将各种靶点RNA转录为cDNA的能力，我们使用96基因TaqMan和SYBR Green Assay检测板及100ng HeLa总RNA，将SuperScript IV VILO预混液与SuperScript VILO预混液和其他供应商的预混液进行比较(图5)。使用SuperScript VILO预混液作为参照，96个基因的 $\Delta C_t$ 值( $\Delta C_t = C_t$  SuperScript IV VILO预混液或其他供应商的产品 -  $C_t$  SuperScript VILO预混液) 如图所示。使用SYBRGreenAssay检测板，SuperScript IV VILO预混液的96个靶点中有95个的 $C_t$ 值早于其他供应商的产品，而96个靶点中有80个的 $C_t$ 值早于SuperScript VILO预混液(图5A)。使用TaqMan Assay检测板，SuperScript IV VILO预混液的96个靶点中有92个的 $C_t$ 值早于其他供应商的产品，而96个靶点中有81个的 $C_t$ 值早于SuperScript VILO预混液(图5B)。在大部分情况下，SuperScript IV VILO预混液的 $C_t$ 值较其他商品化的产品降低超过2个循环，说明该预混液具有更高的效率和产量(图5A和B)。

## 用于难以处理的样本时，较其他预混液更高效

降解RNA对无偏差的RNA至cDNA的转化提出了挑战，因此RNA的质量对于获得可重复且准确的RT-qPCR结果至关重要。要确定SuperScript IV VILO预混液更高的稳定性是否可以应对降解RNA的挑战，我们使用从冷冻肺组织中中提取的50 ng RNA (RNA完整值<5)，利用TaqMan qPCR Assay将SuperScript IV

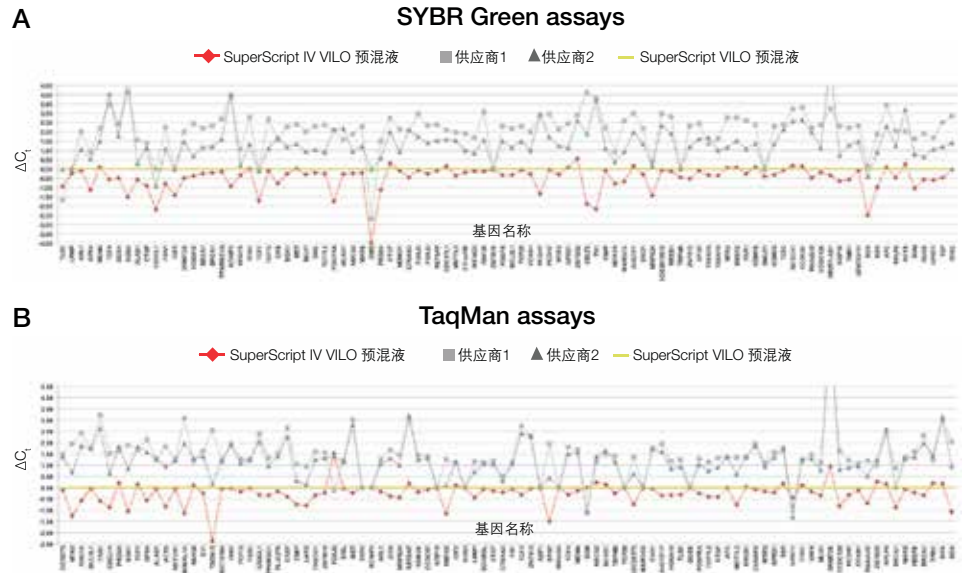


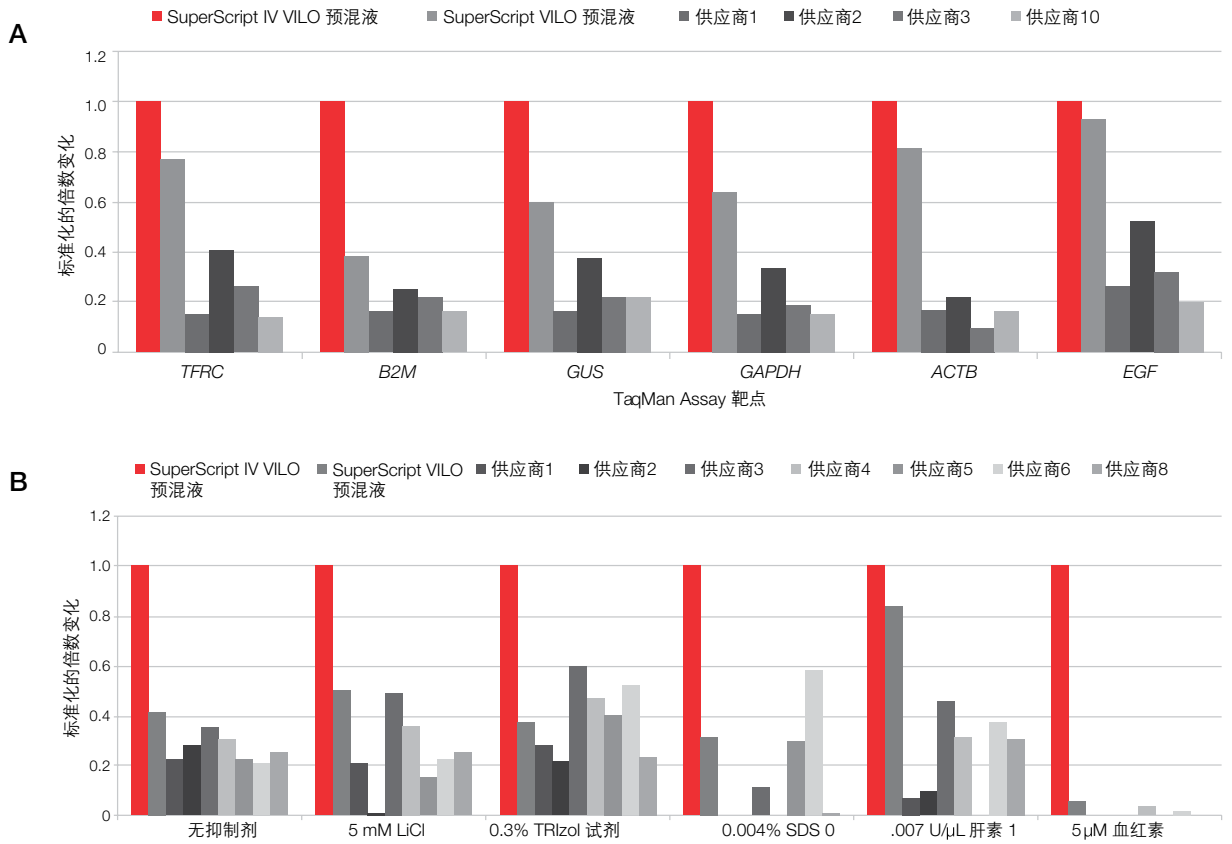
图5. SuperScript IV VILO预混液和其他商品化的试剂盒在(A) SYBR Green和(B) TaqMan 96-基因表达Assay中的性能。

VILO预混液与SuperScript VILO预混液及其他供应商的预混液进行比较(图6A)。6个人类靶点的分析显示，SuperScript IV VILO预混液较其他所有检测产品更高效(图6A，标准化的倍数变化 =  $2^{(C_t \text{ SuperScript IV VILO预混液} - C_t \text{ 其他产品})}$ )。

导致RT-qPCR不准确的另一个问题是在RNA样本抽提和纯化过程中共纯化出的RT抑制剂。例如TRIzol试剂——一种含有酚的RNA抽提试剂；SDS——一种常用的溶解试剂；氯化锂(LiCl)等盐——在RNA分离和沉淀过程中用于多个步骤。此外，生物学样本中可能天然存在血红素和肝素等RT抑制剂。要检测这些物质对逆转录效率的影响，在引物退火步骤之前，将几种抑制剂加入100 ng HeLa总RNA中。图6B所示的浓度是逆转录反应中抑制剂的最终浓度。同时还

显示了不含抑制剂的对照反应(图6B，无抑制剂)。使用SuperScript IV VILO预混液、SuperScript VILO预混液和其他七种商品化的预混液进行逆转录，然后进行qPCR，结果显示在所有检测抑制剂存在的条件下，SuperScript IV VILO预混液较SuperScript VILO预混液和其他供应商的产品更高效(图6B，标准化的倍数变化 =  $2^{(C_t \text{ SuperScript IV VILO预混液} - C_t \text{ 其他产品})}$ )。这些数据显示，用于难以处理的样本(如降解或含有抑制剂的样本)时，SuperScript IV VILO预混液较其他预混液更高效。

图6. 用于 (A) 降解和 (B) 含有抑制剂的 RNA 时, SuperScript IV VILO 预混液的效率更高。



### 无RT对照和ezDNase酶可轻松评估gDNA污染

目前大多数RNA纯化方法无法彻底去除RNA样本中的gDNA。污染的gDNA会影响靶基因的特异性扩增,从而造成RT-qPCR假阳性结果及差异性增加。要轻松控制DNA污染, SuperScript IV VILO预混液提供了真正的无RT对照,其含有除SuperScript IV酶外的所有预混液组分。含有ezDNase酶的SuperScript IV VILO预混液还包括双链DNA特异性的DNA酶,可轻松去除DNA污染。ezDNase酶实验方案是37°C短暂处理RNA 2分钟,然后进行引物退火(图7)。要评估SuperScript IV VILO预混液无RT对照如何指示gDNA污染,我们将100 ng

人gDNA加入250 ng HeLa总RNA中,然后加入无RT对照。随后使用ezDNase酶或DNase I处理样本,利用针对人gDNA的qPCR Assay进行评估。如使用酶处理之前和之后的RNA + gDNA + 无RT对照样本的扩增曲线所示, ezDNase酶和DNase I均可以高效地去除无RT对照中的gDNA, (图8)。但是,与其他包括gDNA去除的传统逆转录工作流程相比,含有ezDNase酶的SuperScript IV VILO预混液可节省>70分钟的反应时间(图7)。

使用DNase I的传统逆转录工作流程 (105 分钟)



使用ezDNase酶的SuperScript IV VILO 预混液工作流程 (27分钟)



■ DNA酶处理 ■ DNA酶灭活 ■ 引物退火 ■ 逆转录 ■ 逆转录终止

图7. 包含gDNA去除步骤的传统工作流程和SuperScript IV VILO预混液工作流程比较。

## 更安全的gDNA去除和更准确的RT-qPCR检测

gDNA去除是利用RT-qPCR实现更准确的特异性靶点检测的关键，DNA酶处理和灭活会导致RNA样本破坏或损失。DNase I需要特殊的灭活处理，这会对RNA完整性产生负面影响，而ezDNase酶则可以在高温下轻松灭活，无需在cDNA合成前去除。因此，相比DNase I，ezDNase酶不仅gDNA去除更快，而且对RNA更安全。要检测使用ezDNase酶获得的RNA是否更完整，我们使用ezDNase酶和DNase I处理HeLa总RNA。参照标准的实验方案，使用ezDNase酶处理的样本可直接用于RT-qPCR，而使用DNase I处理的样本则需要先进行DNase I灭活。将这两种RNA样本连续稀释后加入双份重复的RT-qPCR反应中，反应还使用了SuperScript IV VILO预混液和TaqMan 18S rRNA Assay或SYBR Green PBDG Assay。对于除最低RNA起始量外的全部RNA起始量，相比ezDNase酶处理，DNase I处理样本的C<sub>t</sub>值更晚（平均晚0.5个循环）（图9）。上述结果显示，DNase I处理和灭活确实会破坏RNA完整性，而ezDNase酶处理则可获得更多RNA，用于SuperScript IV VILO预混液的灵敏检测。

## 结论

我们不仅致力于不断为科学家提供最佳的试剂和工具，用于当前和未来的研究，我们还致力于提供更加用户友好的和最可靠的工具和试剂。如本文数据所示，SuperScript IV VILO预混液是一款出众的cDNA合成预混液，可用于两步法RT-qPCR。SuperScript IV VILO预混液还包括ezDNase酶（安全且轻松地去除gDNA），其用于两步法RT-qPCR时的灵敏度、产量和可重复性均优于其他cDNA合成试剂盒和预混液，适用于常规和难以处理的RNA样本，且反应时间最短。

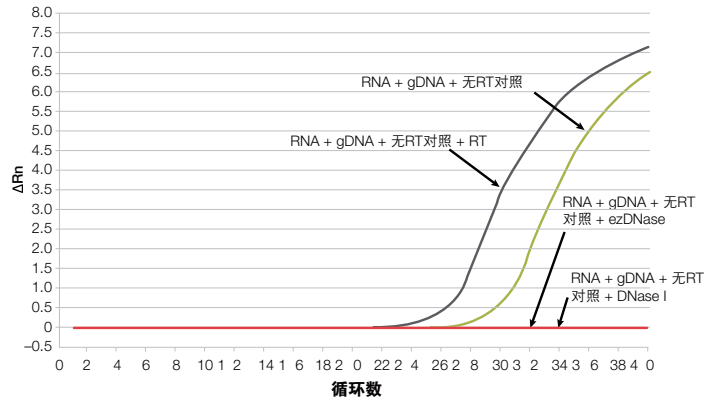


图8. 使用ezDNase酶和DNase I去除无RT对照中加入的gDNA的扩增曲线比较。

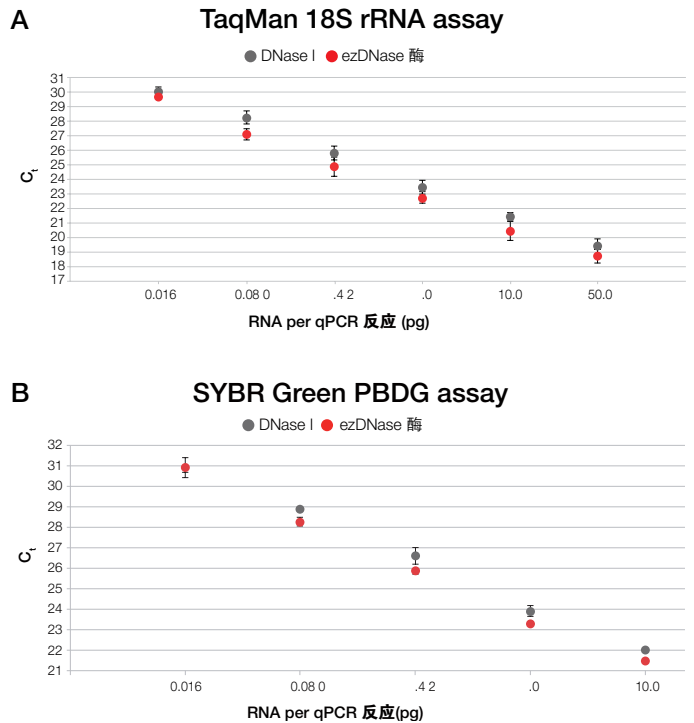


图9. 利用 (A) TaqMan 和 (B) SYBR Green Assay检测使用ezDNase酶或DNase I处理后的RNA的完整性。

如需了解更多信息，请登录 [thermofisher.com/4vilo](http://thermofisher.com/4vilo)

免费服务电话：800 820 8982 / 400 820 8982  
 销售服务信箱：sales.china@thermofisher.com  
 技术咨询信箱：lifescience-cn@thermofisher.com

上海办事处电话：021-61452000  
 北京办事处电话：010-84461800

广州办事处电话：020-38975100  
 成都办事处电话：028-65545388

**ThermoFisher**  
 SCIENTIFIC

thermofisher.com