



C₁TM 单细胞自动制备系统



每个细胞都是独特的

C1™ 单细胞自动制备系统—— 挑战平均定律

细胞间存在着广泛的异质性。仅仅测定细胞群平均值会掩盖很多单细胞的重要功能和其中蕴含的遗传信息。传统方法用移液枪分离和处理单细胞的方法很费力耗时也容易出错。长期以来，生物学家和临床工作者一直在寻找一套完整的工作流程来检测分辨单一细胞，根据它们独特的基因组和转录组进行分组，同时将技术原因引起的噪音最小化。

C1 单细胞自动制备系统是世界上第一个商业化的用于基因组学研究的自动化单细胞分离制备系统。通过采用富鲁达公司创新的微流控技术，能够快速可靠地分离、处理、并对单一细胞进行基因组分析。这项前所未有的技术，让你一次完成提取、预扩增及最终检测分析细胞的全过程，减少了因多平台技术之间的误差而造成的多变性。

该系统为研究细胞分化、异质性，分析单细胞对特定刺激的反应，验证重要疾病生物标志物，检测 RNA 干扰沉默基因表达和候选药物筛选等开启了新的大门。

系统优势：

- **一体化**：完整的自动化流程一步操作实现从细胞捕获、制备到核酸样本的获取
- **单细胞准确性**：更准确地测量单个细胞间的基因表达谱差异
- **灵活性**：可扩展到全转录组及各种发现
- **简便易用**：以优化的流水线工作流程和直观的界面简化细胞分离和制备过程
- **快速**：一天内完成从细胞加入到数据收集

系统组成部分：

C1 单细胞自动制备系统

- 突破性的自动化系统，分离、处理并获取用于后续分析的单个细胞



C1 单细胞自动制备微流控芯片

- 专利的微流控芯片设计，捕获和高度平行化地制备 96/800 个单细胞

C1 单细胞自动制备试剂盒

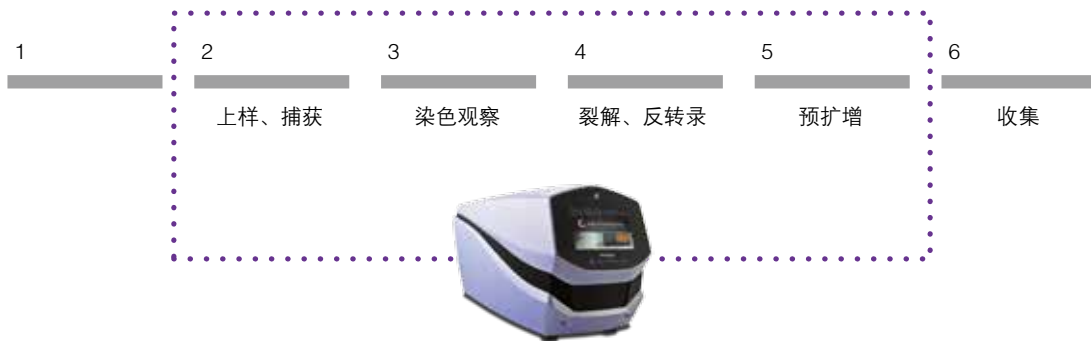
- 随时就绪可用的试剂盒来支持细胞悬浮、裂解和纯化

- 逆转录 / 预扩增试剂盒 (请从推荐的厂家单独购买)



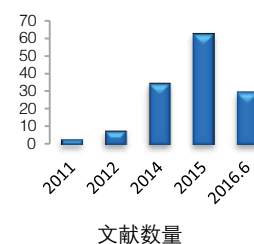
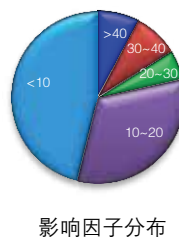
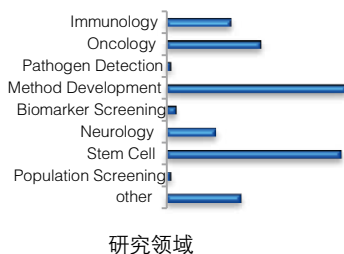
流程快速简便：

利用优化的实验流程、配套的试剂盒和微流控芯片，只需要 20-30 分钟的手工操作时间，即可捕获制备 96/800 个单细胞。简单的用户界面和完善的系统流程帮您实现“上样走人”的高效率工作并确保获得单细胞的准确性。



研究领域及发展趋势：

通过 C1 单细胞自动制备系统获取的数据，其创新性稳定性和准确性经过了大量的文献验证 (数据截止至 2016 年 6 月)。



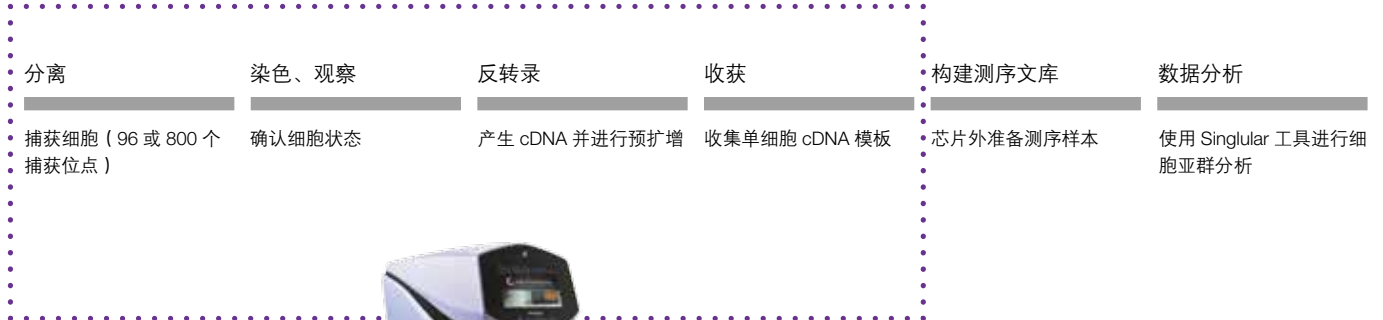
C1™ 单细胞自动制备系统用于 mRNA 测序

- **更完整的流程：**首尾相连的流程对单细胞进行全转录组分析
- **灵活的通量：**每次实验可平行处理 96/800 个单细胞
- **更容易的操作：**直接从单细胞开始，简化的样本制备，只需 3 小时手工操作时间，无片段化，无需纯化步骤
- **更节省的成本：**创新的纳升级 (nl) 反应体系将成本降至标准单细胞文库制备的几分之一甚至更低
- **兼容性强：**与多种测序平台均兼容

研究人员正在对转录组进行更深入的分析，以揭示细胞发育、代谢和疾病的新机理。mRNA 测序是一种极具价值的工具，它可以帮助研究者发现驱动肿瘤产生、激活分化、调节生物学机制的关键细胞亚群，理解在决定细胞命运的重要时期亚群怎样对信号和其他环境线索做出反应，或者它们何时获得异常表型。在单细胞中研究这些基因表达模式已经极大地促进了细胞生物学的发展。

可是，大多数方法对单细胞分析来说并不现实：它们需要大量的细胞，实验流程复杂，实验结果不稳定，而且成本高昂。C1™ 单细胞 mRNA 测序应用通过先进的微流控技术简化了整个过程，创新的纳升级 (nl) 反应体系降低试剂使用量，节约成本，有效地加快了您科学发现的脚步。

工作流程



快速阐明异质性，识别关键细胞群

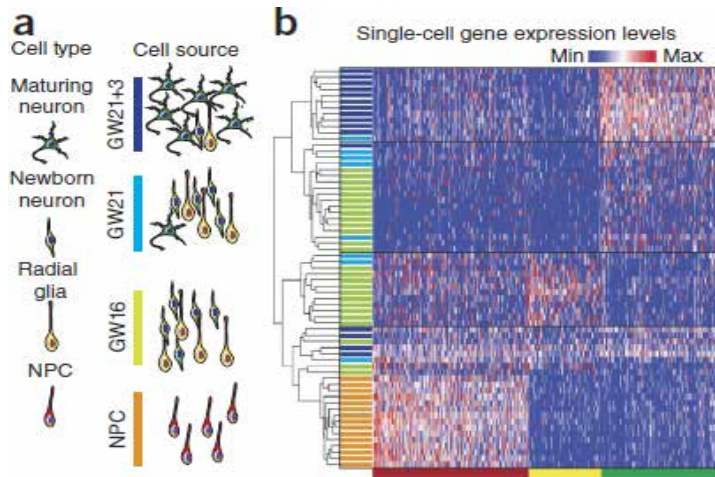
现在您可以快速可靠地分离、制备和分析任意规模的单细胞。从发现某种亚型或基因特征的小规模的先导性研究项目，到大规模的研究基因表达或者测定细胞亚群的频率等项目，您都可以通过一个系统轻松完成。

C1 mRNA 测序芯片 – 单细胞样本制备金标

C1™ mRNA 测序芯片可以平行处理多达 96 个 cDNA 文库，在多种 Illumina 测序仪上对 mRNA 表达进行相对定量，可以帮助您开展以下研究：

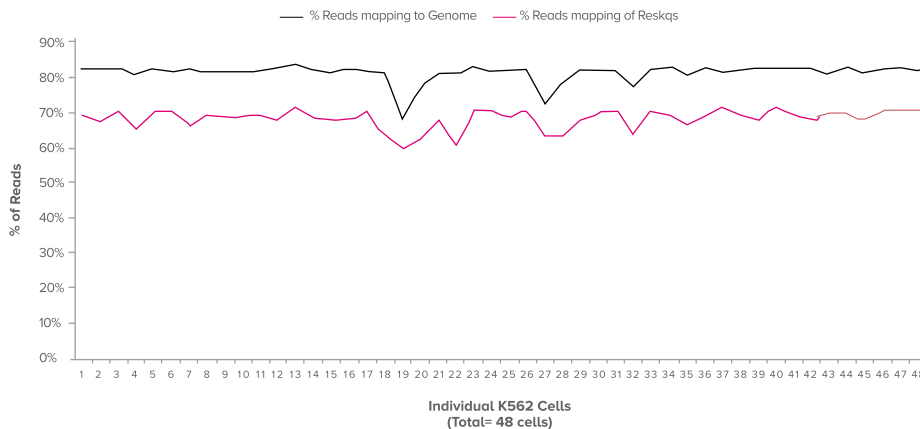
- 测量基因、等位基因和剪接变体的表达水平
- 比较单细胞和群体的表达谱
- 确定转录起始位点
- 鉴定可能的剪接类型
- 评估后转录活动
- 发现新的转录子和基因融和

单细胞 mRNA 测序为您揭示细胞异质性的全貌以及定义细胞亚群的关键特征。现在，您可以用 C1 制备成百上千个单细胞，并且用 Singular 工具快速分析您的测序数据以识别新的细胞亚群。

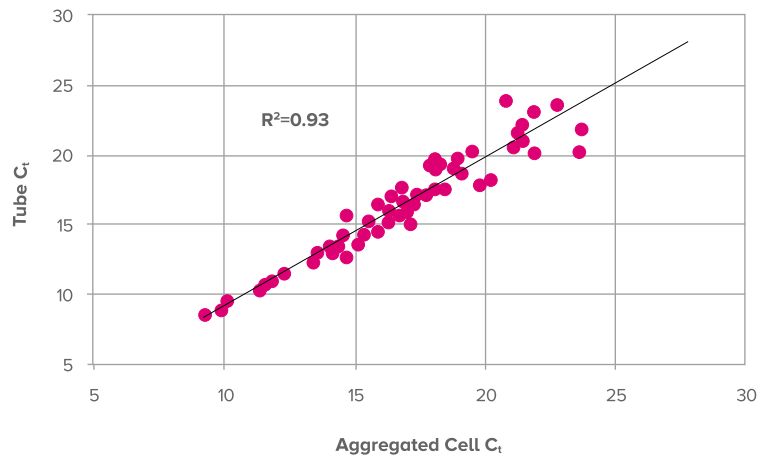


利用 C1 mRNA 高通量测序从神经元分化的不同阶段选择的单细胞进行 Hierarchical 聚类分析结果，揭示了在组织整体研究中没有发现的特殊细胞类型以及与其相关的、新的 Marker。

自 C1™ mRNA 测序芯片推出至今，已有多项研究采用此技术获得科学成果并发表了大量文献，这些数据结果充分证明了 C1 mRNA 测序芯片的卓越表现。



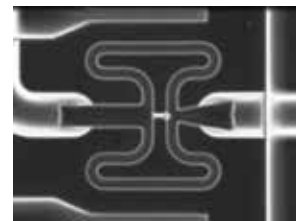
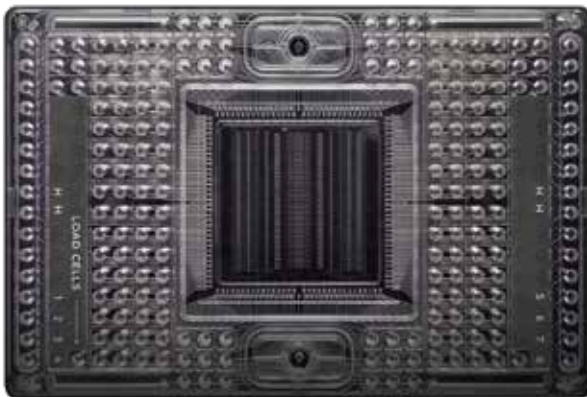
匹配至参照物的 reads 占总 reads 百分比的函数关系。48 个 K562 单细胞使用 SMARTer Ultra Low RNA 试剂盒在 C1™ 单细胞系统上处理，然后使用 Nextera XT 试剂盒进行文库构建，生成这些数据。平均 read 深度为 300 万 reads，超过 95% 的细胞有大于 50 万的总 reads。



叠加单细胞的 Ct_s 和使用 PCR 管多细胞的 Ct_s 的相关性图。在 BioMark™ HD 系统上用 DELTAgene™ 试剂对单细胞 cDNA 文库和一个多细胞 PCR 管参照进行了分析。单细胞 cDNA 文库累加所得数据和多细胞 PCR 管实验参照所得数据密切相关 (R²=0.93)。使用 BioMark HD 系统进行常规的 qPCR 实验可以对每个文库的产量和质量进行快速的评估。

C1 mRNA 高通量测序芯片 - 揭开细胞异质性的面纱

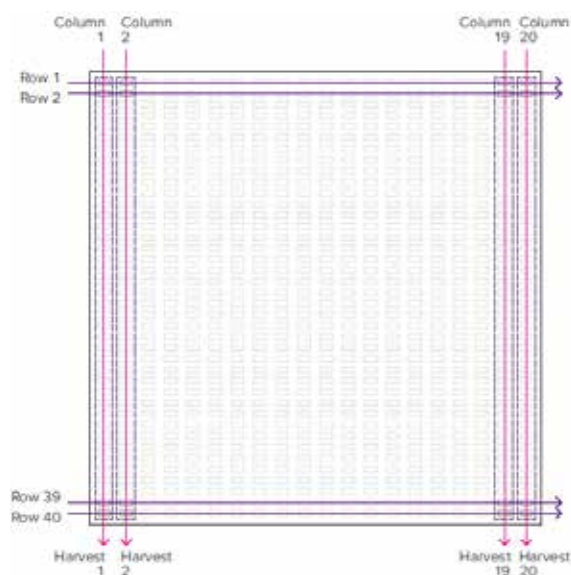
当我们将目光聚焦在更奇特、罕见的细胞亚群时，研究 10,000-100,000 个单细胞的需求就会应运而生。通过增加所研究的单细胞模型的数量，我们能够发现新的细胞类型，阐明各细胞群体的分布情况，以及解析组织构成。C1 mRNA Seq HT IFC (C1 mRNA seq 高通量芯片) 让每一个位 C1 用户可在不投资新设备的情况下，将自己的研究轻松拓展到 10,000 个单细胞，并且最大限度的利用测序的每一个 Run。通过简单的工作流程可以在一天完成 2 张芯片，使您在 24 小时内制备多达 1,600 个单细胞的 cDNA 样本。另外，这个工作流程通过芯片上的多重反应使得文库制备的成本降低了 40 倍，是迄今为止最具效率的工作流程。



↑ 上图：细胞捕获仓

← 左图：C1mRNA 高通量测序芯片
(mRNASeq HT IFC)

Barcoding 技术实现高通量流程



图：C1 mRNA 高通量测序芯片通过 40 行 20 列的网格设计呈现出 800 个捕获位点。细胞被捕获和裂解后，在反转录过程中，每一列内 40 个捕获位点的产物被分别加上各自的 barcode。反转录后，IFC 将以列为单位收获 cDNA。每一个收获的产物 pool 都包含 40 个已经加好 cell barcode 的 cDNA。接下来，这 20 个收获的 cDNA pool 在测序文库构建的过程中加上 Nextera 测序的 index。

C1 单细胞 mRNA 测序的完整解决方案

伟大的发现需要开辟新的思路。单细胞分析在发现新的转录组网络，进而揭示在发育、代谢和疾病中的新的细胞角色有着巨大潜能。您可以根据研究需求以及研究规模选择最优化的解决方案。

	C1 mRNA Seq	C1 mRNA Seq HT
Throughput	96 cells	800 cells
Methodology	Full transcript or 3' end-counting	3' end-counting
Chemistry	SMARTer® V1	SMARTer V3
Run time	10 hours	6.5 hours
Hands-on library preparation time	1 hour	20 minutes
On-IFC barcoding and multiplexing	No	Yes
Cell Imaging	Stain and visualize	Stain and visualize
Cell load structure (port x cells captured)	1 x 96	2 x 400

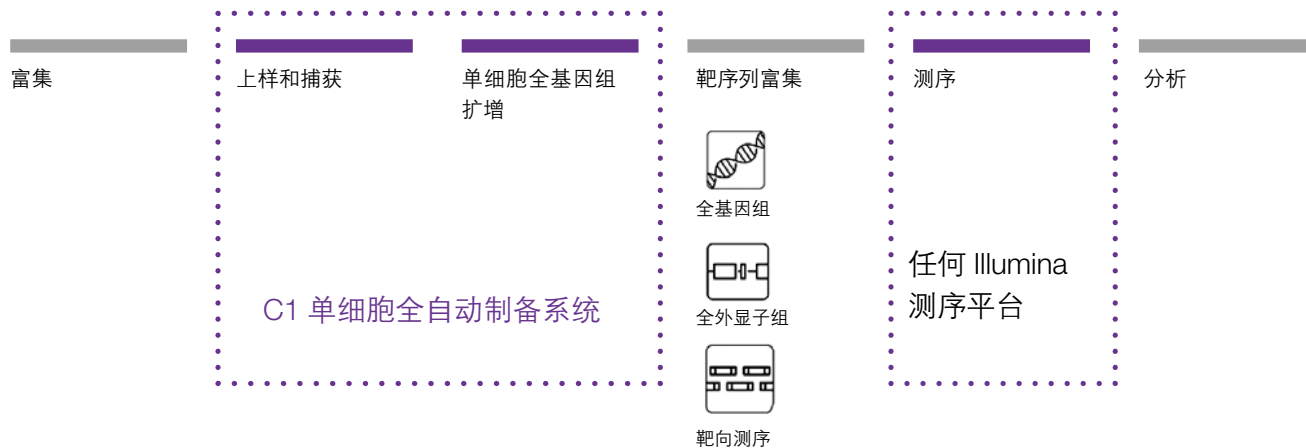
C1™ 单细胞自动制备系统用于基因组 DNA 测序

- **高通量：**一次实验可获得多达 96 个单细胞的基因组 DNA 扩增产物
- **适用的样本类型广：**适用样本类型涵盖哺乳动物各类原代细胞及细胞系
- **细胞用量少：**最低上样量为 200 个细胞
- **实验耗时短，操作简便：**从单细胞悬液到全基因组 DNA 的扩增产物，不超过 10 小时，其中手工操作时间不超过 1 小时。
- **兼容性强：**与多种 Illumin 测序平台均兼容

通过测序寻找重要的基因组 DNA 突变，是揭示肿瘤及其他病变细胞遗传特质的重要研究手段。体细胞突变的长期积累，会使细胞在遗传水平和生理表型上展现出不同的分化特质，进而导致克隆亚群的产生。目前针对群体细胞的基因组 DNA 研究手段，不能有效地检测出重要的低频体细胞突变，也无法揭示体细胞突变和肿瘤克隆间的相互关联。

借助 C1 单细胞制备系统，配合 GE Healthcare 公司的 illustra™ GenomiPhi™ V2 DNA Amplification 试剂盒，只需不超过 1 小时的手工操作时间，即可获得多达 96 个的单细胞的高质量 DNA 扩增产物，并可轻松对接全基因组测序、全外显子组测序、靶向测序等多类检测应用。

工作流程

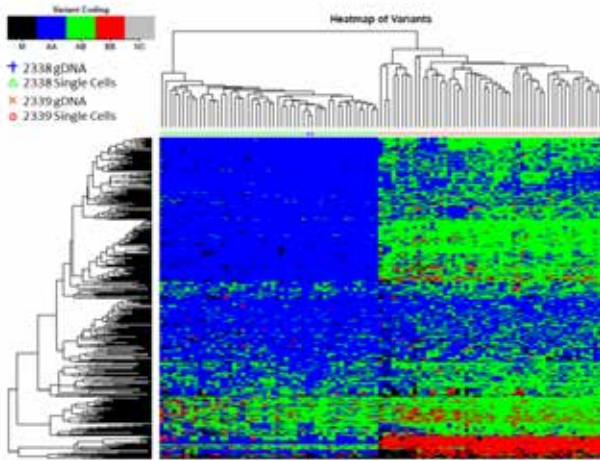


应用范围广泛

- 单细胞单核苷酸突变
- 单细胞 DNA 片段插入与缺失
- 单细胞基因拷贝数变异
- 单细胞染色体易位等结构变异
- 肿瘤克隆分群及谱系建立

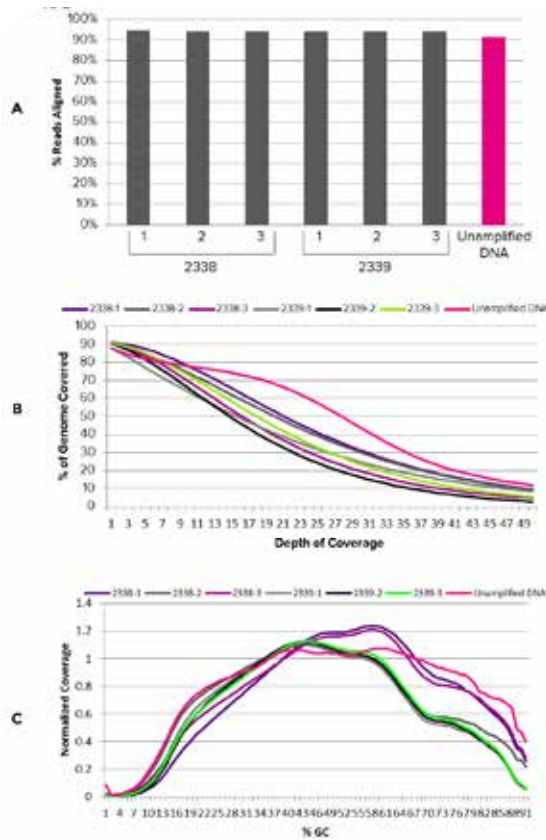
C1 DNA 测序 – 发现低频突变、建立肿瘤克隆谱系的最佳选择

Figure 5

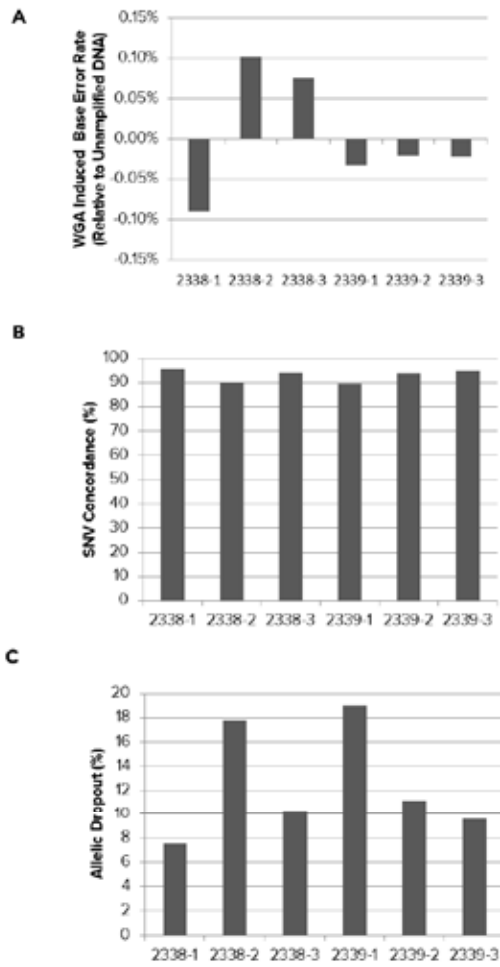


研究人员对来源于同一个患者的 50 个导管癌肿瘤细胞 (CRL-2338/HCC1954) 和 50 个正常 B 淋巴细胞 (CRL-2339/HCC1954-BL) 进行了单细胞全外显子组测序, 并对发现的 474 个突变位点进行了层次聚类分析。结果显示单细胞测序能发现常规组织样本测序不易检测到的低频突变; 而且聚类结果显示肿瘤细胞与正常细胞完全分离, 说明单细胞测序是肿瘤细胞鉴别、肿瘤克隆发展历程研究的不二之选。

卓越的技术表现



Fluidigm 基于微流控芯片的单细胞 DNA 扩增技术, 最大程度地保证了扩增的均一性。图中数据源于 6 个单细胞的全基因组测序结果 (CRL-2338/HCC1954 和 CRL-2339/HCC1954-BL), 平均测序深度为 27X。A. 单细胞测序数据与基因组的匹配率均超过 90%。B. 6 个单细胞测序结果的平均基因组覆盖度大于 90%。C. 单细胞 DNA 扩增技术极大地改善了基因组高 GC 区域的覆盖度, 即使在 GC 含量高达 70% 的区域, 单细胞 DNA 测序的平均覆盖度也能达到群体细胞 DNA 测序覆盖度的 70% 以上。



单细胞全基因组扩增引入的碱基错误率, SNV 准确率, 以及等位基因丢失率 (allelic dropout rates)。A. 6 个单细胞的全基因组测序结果显示碱基错误率 $\leq 0.1\%$ 。B. 通过单细胞全基因组测序找到的 SNV 平均准确率为 $>92\%$ 。C. 单细胞 DNA 扩增产物等位基因丢失频率的均值 $<13\%$ 。

利用 Fluidigm 单细胞工作流程获取准确可靠的基因表达数据

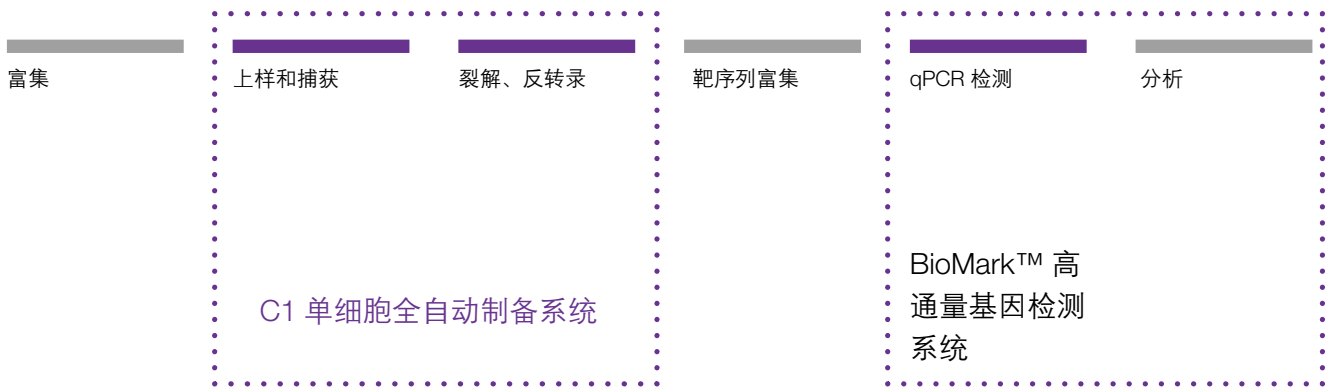
- 达到更准确地检测单一细胞基因表达谱差异性
- 避免测量样品中所有细胞的平均值的坏处
- 鉴定以前不能分辨的细胞亚群和分解新的调控网络

在表面均一的细胞群中，单个细胞在尺寸、蛋白质水平和 mRNA 表达转录上都存在差异，所以默认您的样品中每一个细胞都表现得完全一致是一种危险的赌博，测量集中到一起的多个细胞的平均值可能会掩盖细胞之间基因表达的显著差异。在看起来均一的细胞群中辨别细胞间的差异对于促进干细胞研究、阐明癌细胞发生机制、鉴定免疫反应、研究生物治疗的有效性、发现退行性神经疾病的机理等方面都有至关重要的意义。

Fluidigm 基于微流控技术开发了一种全新的单细胞基因表达研究方法，可以使您在几个小时内测试数以百计的单细胞中数百个基因的表达，而这种实验用传统方法通常要用几天的时间。利用自动化的流程、配套的试剂和优化的芯片，您可以免除繁重的加样和样品混合步骤而达到“加样走人”的生产率。

快速简便的工作流程

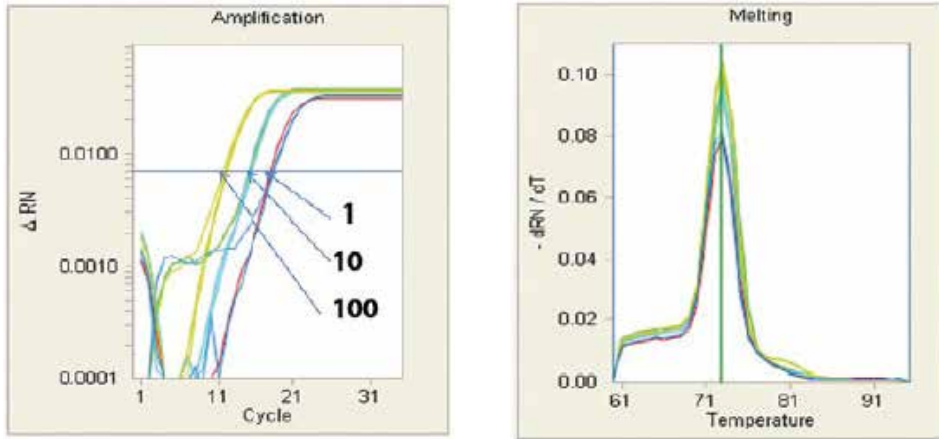
C1 单细胞自动制备系统结合 BioMark HD 系统形成了无缝、高效的基因表达分析流程，支持多达 96 个单细胞的 96 个转录本的同时分析。C1 极大地提高了的基因表达谱研究的效率。BioMark HD 系统为实时荧光 PCR 试验提供快速灵活的通量。



定量 PCR: 在 C1 系统上预扩增的产物被稀释加样到 BioMark HD 系统配套的动态芯片上进行实时荧光 PCR。这些动态芯片具有由微流控通道、反应仓和阀门组成的网络，可以自动完成单个 PCR 反应，所需的移液操作次数比传统方法减少了 100 多倍。

分析: 您可使用 BioMark HD 系统配备的实时荧光定量 PCR 分析软件察看扩增曲线、颜色热图、ct 数据等，快速获得有效数据。

Assay: 同时兼容 TaqMan 和 DELTAgene 基因表达试剂。DELTAgene™ 试剂可根据您的特定需求定制，没有固定的内容要求，只需提供你感兴趣的基因列表（例如 RefSeq IDs）和目标物种名称。所有 assay 都可在 Fluidigm 的标准实验流程下使用，服从 MIQE 指南，启动及运行成本低廉。



图：举例数据：1,10,100 个细胞，客户订制的 EvaGreen 试剂线性数据（3 个重复）。
a) 1,10,100 个单细胞的 Cq 值可以轻易分开。 b) Single Tm peak

C1™ Pre Amp 专为基因表达谱研究设计

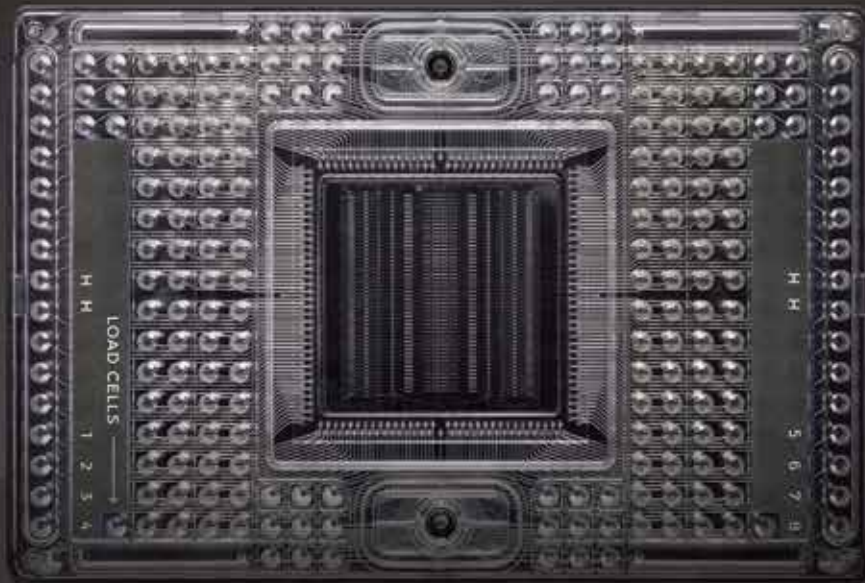
使用整合的温度和气压控制设计，在纳升（nl）级的反应体系中，从捕获到预扩增的所有步骤都在 C1 PreAmp IFC 里可重复且不间断地完成，无需试剂混合、转移和添加等步骤。上样操作简单，将手工操作时间减至最低，减少了转管操作带来的污染，提供高度可靠的数据质量。

C1™ Pre Amp 单细胞自动制备试剂盒

试剂盒包含缓冲液和清洗液，可随时取用，用于 C1 单细胞自动制备系统中进行的自动初始化、捕获、裂解、稀释和收获过程。无需混合试剂，降低了管子混淆的风险，为您提供一种简便自动的单细胞样本制备方法。反转录和预扩增试剂需要从推荐的厂家单独购买。



微信号: FLUIDIGM



Corporate Headquarters

7000 Shoreline Court, Suite 100
South San Francisco, CA 94080 USA
Toll-free: 1.866.FLUIDLINE | Fax: 650.871.7152
fluidigm.com

Sales

富鲁达(上海)仪器科技有限公司
上海市徐汇区中山西路1600号宏汇国际广场A1709室 200235
Tel.: 021-32558368 Fax.: 021-32558369
邮箱: info-china@fluidigm.com
cn.fluidigm.com

© 2016 Fluidigm Corporation. All rights reserved. Fluidigm, the Fluidigm logo, Biomark, C1, Delta Gene, and Dynamic Array are trademarks or registered trademarks of Fluidigm Corporation in the United States and/or other countries. All other trademarks are the property of their respective owners. PN 100-5478 C1

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.