



版本号：07/2024

Single Cell WGA Kit (MDA)

单细胞全基因组扩增试剂盒 (MDA)

Cat. No. CW2843S (24 rxns)

CW2843M (96 rxns)

产品简介

单细胞全基因组扩增试剂盒基于MDA的等温扩增体系，可以以单个细胞或者微量样本为模板实现全基因组扩增。单细胞全基因组经扩增后扩增产物大小在2-100 kb之间，可广泛适用于二代测序、大片段拷贝数变异分析、微卫星分析、qPCR分析、基因芯片分析等。

本试剂盒使用的Phi29 DNA聚合酶是从噬菌体中克隆的DNA聚合酶，具有很强的链置换活性和链亲合力，单次聚合反应可以实现长达100kb的连续聚合延伸，其扩增产物适用于多种下游应用，Phi29 DNA聚合酶还具有很强的3'-5'外切酶活性，保证了DNA合成的高保真性。正常情况下一个反应可以产生大于20 μ g高覆盖度的基因组DNA。

试剂盒中所有酶和缓冲液都经过了严格的质量控制和功能验证，优化的实验体系最大程度上提升了扩增均一性，保证了扩增的稳定性和重复性。

产品组成

Component	CW2843S 24 rxns	CW2843M 96 rxns
SC-DNA Polymerase	48 μ L	192 μ L
SC-Reaction Buffer	1 mL	4 \times 1 mL
Buffer D	1 mL	1.5 mL
Buffer N	1 mL	1.5 mL
DTT, 1 M	1 mL	1 mL
PBS	1 mL	1.5 mL

储存方式

全基因组扩增试剂盒于干冰中寄送，请在收到本试剂盒之后立即将所有组分储存-20 $^{\circ}$ C中，可保存1年。如需更长期储存请-70 $^{\circ}$ C以下存放。

适用范围

适用于以单个细胞或者少量基因组样本为模板进行基因组的无差别扩增，可广泛应用在多个研究领域。不适用于固定过的细胞及FFPE等低质量的样本。

人和动物

- ◇ 干细胞研究
- ◇ 肿瘤进展研究
- ◇ 肿瘤干细胞分析
- ◇ 遗传工程动物基因分型
- ◇ 嵌合研究
- ◇ 胚胎植入前遗传学诊断
- ◇ 循环胎儿细胞的分析
- ◇ 转基因动物分型
- ◇ SNP, CNVs等生物标志研究

细菌

- ◇ 病原体分析
- ◇ 宏基因组学研究
- ◇ 微生物分型

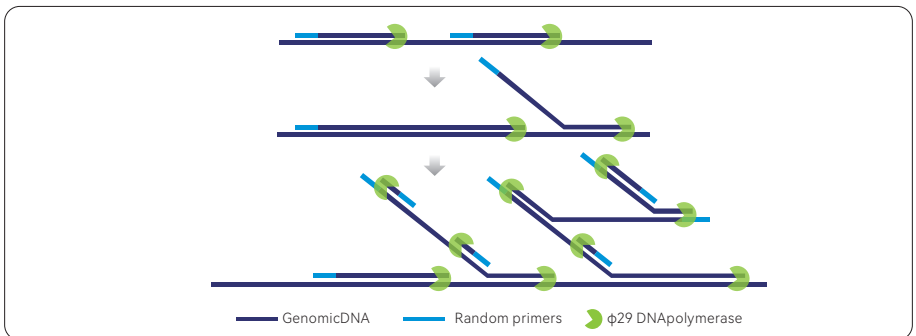
植物*

- ◇ 花粉分析
- *没有细胞壁细胞或纯化的基因组DNA。

自备仪器、试剂、耗材

- √ 离心机
- √ 水浴锅或PCR仪
- √ 反应管：建议使用低吸附的PCR管
- √ 枪头：建议使用高质量过滤枪头防止污染
- √ 去离子水

操作流程示意图



样本准备

1. 细胞样本：

细胞数量：本产品可直接以1-1,000个细胞为起始样本进行全基因组扩增，过多的细胞会对反应产生抑制作用。

获取方式：实验前对细胞进行清洗，清洗液为不含Mg²⁺、Ca²⁺等金属离子或BSA的1×PBS溶液；通过显微操作、流式分选或稀释的方法获得单个细胞，可将细胞放入PBS中。

由于细胞基因组的完整性直接影响到扩增产物的完整性，请确定细胞的获取方式对细胞活性的影响，我们建议在每次收集完细胞样品后对细胞活性进行鉴定，死亡的细胞其基因组可能存在降解从而导致实验的失败。

2. DNA样本

对于DNA样品，应尽量避免杂质的污染，并且保证基因组的完整性，降解或片段化的DNA作为起始样本会导致实验失败。

本产品适用于以纯化的基因组DNA (15 pg - 10 ng)为模板进行全基因组的无差别扩增，如基因组完整性与纯度足够高，更少的起始DNA也可使用。

使用方案一

细胞为模板扩增

本方案适用于以1-1000个细胞为模板进行全基因组无差别扩增。应使用新鲜制备的细胞样品，以保证起始基因组的完整性，请勿使用已发生凋亡的细胞。

1. 准备Buffer D2(下表给出的Buffer D2体积足够12个反应，一次实验未完全用完可储存于-20°C，但储存时间不能超过3个月)。

组分	体积
Buffer D	33 μL
DTT, 1 M	3 μL
总体积	36 μL

2. 将4 μL细胞样品(重悬于PBS中)加入到PCR管中。如果样品体积少于4 μL，请使用PBS补足到4 μL。
3. 加入3μL Buffer D2，轻弹管壁混匀并短暂离心收集。请确保细胞没有粘附在管壁上，请勿使用移液器吹打，避免细胞样品粘附到移液器的吸头上。
4. 样品65°C孵育10 min。
5. 加入3 μL Buffer N，轻弹管壁混匀并短暂离心。下步反应准备好之前请将样品置于冰上。
6. 按照下表准备反应混合液，混匀并短暂离心。

组分	体积
SC-Reaction Buffer	38 μL
SC-DNA Polymerase	2 μL
总体积	40 μL

7. 立即将40 μL反应混合液加入到准备好的10 μL DNA样品中(第5步)，轻弹管壁混匀并短暂离心收集。
8. 30°C 孵育2h，如有需要可延长孵育时间增加产量。

9. 65°C 孵育 5 min 失活 SC-DNA Polymerase 。

注：扩增产物是高浓度基因组DNA，请使用水或者TE稀释到合适的浓度后进行下游实验。扩增产物可广泛应用于全基因组和外显子测序、qPCR分析、基因芯片分析等。

使用方案二

基因组为模板扩增

本方案适用于大于1ng纯化的基因组DNA为模板进行全基因组的无差别扩增，如果基因组完整度与纯度足够高，更少的起始DNA也可以使用。（纯化好的高质量基因组DNA，模板可低至0.1ng）。

1. 准备Buffer D1及N1(下表给出的体积足够12个反应，一次实验未完全用完可储存于-20°C，但储存时间不能超过3个月)。

组分	Buffer D1	Buffer N1
Buffer D	7 μ L	—
Buffer N	—	9 μ L
水	25 μ L	51 μ L
总体积	32 μ L	60 μ L

2. 将2.5 μ L DNA样品加入到PCR管中，如果样品体积少于2.5 μ L，请使用水或者TE补足到2.5 μ L。
3. 加入2.5 μ L Buffer D1，轻弹管壁混匀并短暂离心。
4. 室温（15-25°C）孵育3 min。
5. 加入5 μ L Buffer N1，轻弹管壁混匀并短暂离心。下步反应准备好之前请将样品置于冰上。
6. 按照下表准备反应混合液，混匀并短暂离心。

组分	体积
SC-Reaction Buffer	38 μ L
SC-DNA Polymerase	2 μ L
总体积	40 μ L

7. 立即将40 μ L反应混合液加入到准备好的10 μ L DNA样品中(第5步)，轻弹管壁混匀并短暂离心收集。
8. 30°C 孵育2h，如有需要可延长孵育时间增加产量。
9. 65°C 孵育 5 min 失活 SC-DNA Polymerase 。

注：扩增产物是高浓度基因组DNA，请使用水或者TE稀释到合适的浓度后进行下游实验。扩增产物可广泛应用于全基因组和外显子测序、qPCR分析、基因芯片分析等。