



Single Cell WGA Kit

单细胞全基因组扩增试剂盒

Cat. No. CW2844

产品简介

单细胞全基因组扩增试剂盒可以以单个细胞或者微量样本为模板实现全基因组扩增。单细胞扩增反应时间短，总过程约3h，反应经裂解、预扩增、扩增过程即可得到2-5 μg的基因组DNA，片段大小在200-1500 bp左右。使用该试剂盒可以扩增高AT和GC区域。该方法具有单拷贝灵敏度和高特异性。扩增产物可广泛适用于二代测序、大片段拷贝数变异分析、SNP分型、qPCR分析、基因芯片分析等。

本产品经优化升级，可将整个单细胞扩增反应分两步进行，细胞经过裂解后的裂解产物可继续反应，也可在 $\leq 37^{\circ}\text{C}$ 的环境下运输保存。常温运输细胞产物大大减少终端客户干冰运输细胞的不便及物流延迟带来的困扰。

储存条件

请于干冰中寄送，在收到本试剂盒之后立即将所有组分储存于 -20°C 恒温冰箱中，如需长期储存请 -70°C 以下存放。

产品内容

Component	CW2844S 24 rxns	CW2844M 96 rxns
Cell Lysis Buffer	240 μ L	960 μ L
Cell Lysis Enzyme	16 μ L	64 μ L
Pre-Amp Buffer	120 μ L	480 μ L
Pre-Amp Enzyme Mix	7 μ L	28 μ L
Amplification Buffer	1.5 mL	4 \times 1.5 mL
Amp Enzyme Mix	50 μ L	200 μ L

自备仪器、耗材

PCR仪

反应管: 建议使用低吸附的管子

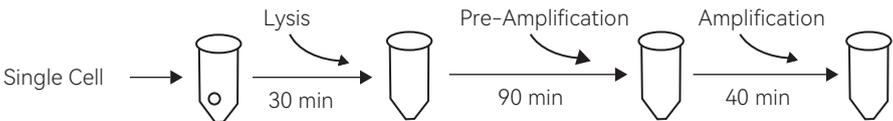
枪头: 建议使用高质量过滤枪头

微型离心机、漩涡混和仪

注意事项

本产品检测灵敏度极高, 实验操作应在正压的超净工作台或洁净环境中完成, 扩增反应产物浓度较高, 应做好隔离, 避免扩增产物导致的气溶胶污染。

操作流程示意图



样本类型及处理方式

1. 样本类型: 细胞样本或微量基因组样本 (≥ 15 pg)
2. 细胞样本收集方法: 流式分选、无限稀释、显微挑取
 - 1) 实验前对细胞进行清洗, 清洗液为不含 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等金属离子或BSA的 $1\times$ PBS溶液;
 - 2) 通过显微操作、流式分选或稀释的方法获得单个细胞, 可将细胞放入含有 5μ L Cell Lysis Buffer的低吸附PCR管中 (含有单细胞样本的PBS体积不超过 2μ L)。

试剂准备

使用前请将细胞裂解酶、预扩增酶和扩增酶置于冰上，其他组分室温解冻，使用前震荡混匀、短暂离心备用。

阳性和阴性对照

在实验设计中包括适当的阳性和阴性对照，以帮助验证测试反应按预期进行。阳性对照建议选择提取的gDNA。一个二倍体的人类细胞含有约6 pg的基因组DNA。考虑基因组的完整性及扩增产物的质量建议使用最小15-30 pg作为阳性对照。可将提取的gDNA稀释至15 pg/ μL ，加入1-2 μL ，其余用Cell Lysis Buffer 补足5 μL 。阴性对照为不含模板的水对照。

操作步骤

1. 细胞裂解

1) 根据反应的数量N，混和Cell Lysis Buffer 和 Cell Lysis Enzyme，震荡混匀，短暂离心备用。

细胞裂解混合液	体积
Cell Lysis Buffer	4 $\mu\text{L} \times \text{N}$
Cell Lysis Enzyme	0.6 $\mu\text{L} \times \text{N}$
Total Volume	4.6 $\mu\text{L} \times \text{N}$

2) 将细胞直接收集在含有5 μL 裂解液的低吸附PCR管中（带入PBS体积不超过2 μL ，增加体积减少产物产量），加入细胞裂解混合液（4.6 $\mu\text{L}/\text{管}$ ）于PCR管中，轻轻混匀，瞬离，放入PCR仪运行以下程序。

循环数	温度	时间
1	50°C	20 min
	95°C	10 min
	4°C	Hold

注：此步骤裂解产物可耐受 $\leq 37^\circ\text{C}$ 保存3d，可以常温转运。

2. 预扩增反应

1) 根据反应的数量N，混和 Pre-Amp Buffer 和 Pre-Amp Enzyme Mix，震荡混匀，短暂离心备用。

预扩增混合液	体积
Pre-Amp Buffer	4.75 $\mu\text{L} \times \text{N}$
Pre-Amp Enzyme Mix	0.25 $\mu\text{L} \times \text{N}$
Total Volume	5 $\mu\text{L} \times \text{N}$

2) 加入5 μ L预扩增混合液于上步10 μ L裂解反应产物中, 运行以下程序。

循环数	温度	时间
1	95 $^{\circ}$ C	2 min
12	95 $^{\circ}$ C	15 s
	15 $^{\circ}$ C	50 s
	25 $^{\circ}$ C	40 s
	35 $^{\circ}$ C	30 s
	65 $^{\circ}$ C	40 s
	75 $^{\circ}$ C	40 s
1	4 $^{\circ}$ C	Hold

3. 扩增反应

1) 根据反应的数量N, 混和 Amplification Buffer 和 Amp Enzyme Mix, 震荡混匀, 短暂离心备用。

扩增混合液	体积
Amplification Buffer	58 μ L \times N
Amp Enzyme Mix	2 μ L \times N
Total Volume	60 μ L \times N

2) 加入60 μ L扩增混合液于上步15 μ L预扩增反应产物中, 运行以下程序。

循环数	温度	时间
1	95 $^{\circ}$ C	2 min
14	95 $^{\circ}$ C	15 s
	65 $^{\circ}$ C	1 min
	75 $^{\circ}$ C	1 min
1	4 $^{\circ}$ C	Hold

说明: 循环数可根据需要调整, 对于流式分选等方式获得的单细胞建议14个循环。

扩增产物检测

1. 琼脂糖凝胶电泳

取5 μ L 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳 (1% 琼脂糖凝胶, 110V, 25-35分钟), 扩增产物大小为200~1500 bp。

2. 定量

对扩增产物进行磁珠或柱式纯化, 纯化产物使用Qubit进行定量, 终产量为2-5 μ g。