



Single Cell WGA Kit (MDA)

单细胞全基因组扩增试剂盒 (MDA)

目录号：CW2843S (24 rxns)

CW2843M (96 rxns)

保存条件：请于干冰中寄送，在收到试剂盒后立即将所有组分储存于-20℃恒温冰箱中，可保存6个月。如需更长期储存请-70℃以下存放。

产品内容

Component	CW2843S	CW2843M
	24 rxns	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

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100 kb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。

自备仪器、试剂

离心机

水浴锅或PCR仪

反应管：建议使用低吸附的PCR管

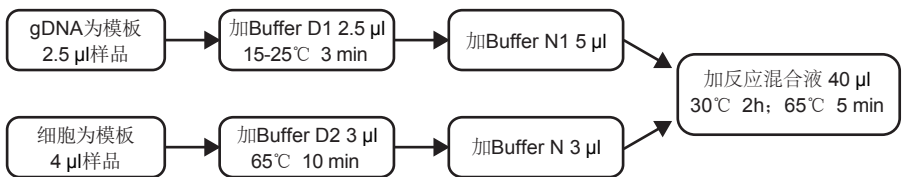
枪头：建议使用高质量过滤枪头防止污染

去离子水

注意事项

1. 本产品检测灵敏度极高，实验操作应在正压的超净工作台中完成，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。
2. 以低质量的样品为模板会影响最终的扩增产物质量，应尽量避免使用大量降解和片段化的DNA作为起始样本。

操作流程示意图



操作步骤

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 μ l
DTT, 1 M	3 μ l
总体积	36 μ l

2. 将4 μ l细胞样品(重悬于PBS中)加入到PCR管中。如果样品体积少于4 μ l，请使用PBS补足到4 μ l。
3. 加入3 μ l 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 μ l Buffer N，轻弹管壁混匀并短暂离心。在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。

基因组为模板扩增

本方案适用于大于1 ng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。

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。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及商业用途