



Single Cell WGA Kit

单细胞全基因组扩增试剂盒

目录号：CW2844S (24 rxns)
CW2844M (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12个月。如需更长期储存请-70℃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

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3 h，反应经裂解、预扩增、扩增过程即可得到2-5 μg 的基因组DNA，大小在200-1500 bp左右。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。

自备仪器、耗材

PCR仪

反应管：建议使用低吸附的管子

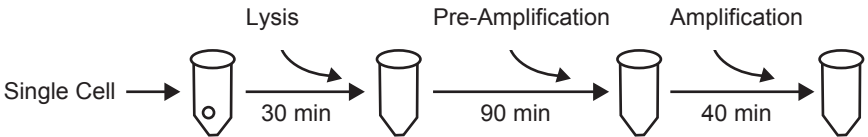
枪头：建议使用高质量过滤枪头

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



操作步骤

实验前准备

通过流式细胞仪分选，缓冲液稀释，显微操作和激光显微切割等方式获得单细胞，建议在实验前对细胞进行清洗，清洗液为不含 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的1×PBS溶液，需注意，确保后续实验中的PBS溶液的体积不超过2 μl 。

注意

由于实验全程在同一PCR管中进行且反应体积较小，因此加液操作时移液器吸头不要接触管中液体，避免将单细胞或DNA带出反应体系；移液时，请沿管壁小心添加，勿吹打PCR管中液体；反应前，请进行短暂离心，确保反应体系中的液体混和均匀。

使用前请将细胞裂解酶、预扩增酶和扩增酶置于冰上解冻。

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	9.4 $\mu\text{l} \times \text{N}$
Cell Lysis Enzyme	0.6 $\mu\text{l} \times \text{N}$
Total Volume	10 $\mu\text{l} \times \text{N}$

2) 将单细胞与细胞裂解混合液混匀于PCR管中, 运行以下程序。

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

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 μl 预扩增混合液于上步10 μl 裂解反应产物中, 运行以下程序。

循环数	温度	时间
1	95°C	2 min
	95°C	15 s
	15°C	50 s
12	25°C	40 s
	35°C	30 s
	65°C	40 s
	75°C	40 s
1	4°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 $\mu\text{l} \times \text{N}$
Amp Enzyme Mix	2 $\mu\text{l} \times \text{N}$
Total Volume	60 $\mu\text{l} \times \text{N}$

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

循环数	温度	时间
1	95°C	2 min
	95°C	15 s
14	65°C	1 min
	75°C	1 min
1	4°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 μl 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳（1%琼脂糖凝胶，110 V，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 μg 。