天净沙系列

CAT#:220539

低温运输、-20℃保存

天净沙

单细胞全基因组扩增试剂盒（MDA 荧光染料法）

Single-Cell Whole Genome Amplification Kit (SYBR MDA Method)

使用手册 V1.01

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是基于 DNA 环化技术和 MDA 技术、用于从单细胞（或数个细胞）中制备和扩增全基因组的试剂盒。本产品有下列特点：

1． 即开即用，不需要单独准备和优化所需试剂。

2． 可以扩增单个细胞的基因组达上万倍。

3． 具有全基因组扩增的所有特点，包括高产量和高保真性。

4． 可使用各种来源的样品，包括培养细胞和胚胎细胞等。

5． 产物可用于多种后续试验，包括多重PCR、长片端PCR、定量PCR、克隆、文库构建、单倍型分析、测序、基因芯片分析、各种遗传分析（片段差异，微卫星差异、SNP、STR）等。

6． 本产品足够30次微量扩增。

7． 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用十孔盒包装

成分	编号	规格	包装
单细胞裂解液（扩增专用）	220539a	100 µL	0.5 mL 本色盖
单细胞 MDA 扩增溶液 A	220539b	30 µL	0.5 mL 蓝色盖
MDA 专用随机引物溶液	220539c	60 µL	0.5 mL 白色盖
20×饱和染料	220539d	30 µL	0.5 mL 棕色管
10×DNA 环化-扩增缓冲液	220539e	50 µL	0.5 mL 绿色盖
dNTP（25 mM）	220539f	30 µL	0.5 mL 黄色盖
DNA 环化酶 A	220539g	15 µL	0.5 mL 紫色盖
DNA 环化酶 B	220539h	15 µL	0.5 mL 橙色盖
phi 29 DNA 聚合酶（10 U/µL）	220539i	15 µL	0.5 mL 红色盖
使用手册	220539sc	1 份	无

运输及保存

低温运输、-20℃保存，有效期一年。

自备物品

超纯水，重悬细胞缓冲液

使用流程

1 如果有 N 个样本，则标记 N+1 个 0.2 mL 的 PCR 管，在每个管中加入 2.5 µL 单细胞裂解液（扩增专用）。多出的一个管标为无模板对照管。

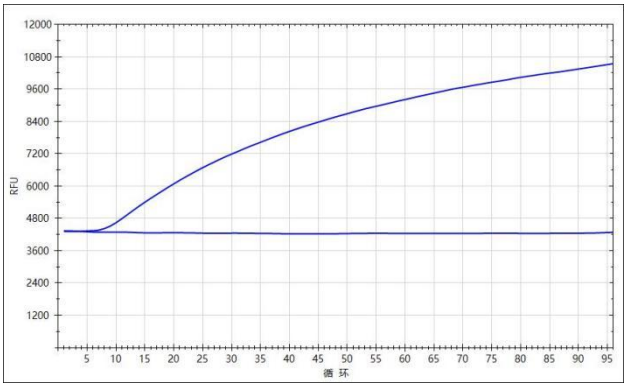
2 将细胞悬浮在自备的 PBS 缓冲液或其他合适的缓冲液中，在显微镜下用毛细管转移单个细胞（或数个细胞，总体积不超过 2.5 µL）到上步准备的管中。在无模板对照管中不加入细胞，只加入 2.5 µL 重悬细胞所用的缓冲液。

3 室温放置 10 分钟裂解细胞，所得裂解液为单细胞裂解液。

4. 在上步的 5 μL 单细胞裂解液中按下表加入各成分：

成分	N 个样本管	无模板对照管
超纯水	4.5 μL	4.5 μL
DNA 环化酶 A	0.5 μL	0.5 μL
在 PCR 仪器上 37℃ 2 小时，65℃ 20 分钟，95℃ 5 分钟，待温度下降到 30℃左右加入		
10×DNA 环化-扩增缓冲液	0.5 μL	0.5 μL
单细胞 MDA 溶液 A	1 μL	1 μL
DNA 环化酶 B	0.5 μL	0.5 μL
超纯水	3 μL	3 μL
在 PCR 仪器上 65℃ 1 小时，85℃ 10 分钟后加入		
10×DNA 环化-扩增缓冲液	0.5 μL	0.5 μL
MDA 专用随机引物溶液	2 μL	2 μL
20×饱和染料	1 μL	1 μL
dNTP（25 mM）	1 μL	1 μL
在 PCR 仪器上 95℃ 5 分钟，自然冷却到室温后加入		
phi29 DNA 聚合酶，10 U/μL	0.5 μL	0.5 μL
合计	20 μL	20 μL

5. 30℃保温 12 小时。最好使用 PCR 仪进行 30℃保温（注意：不是 37℃）并打开热盖保温。每 10 分钟设置成一个循环，采集一次 SYBR 通道的荧光信号。由于是可以实时检测反应，所以反应不一定要在设置时间到达后结束，可以在扩增曲线进入平台期后（已经没有新的 DNA 合成）结束。
6. 65℃保温 10 分钟使 phi29 DNA 聚合酶灭活。注：由于 phi29 DNA 聚合酶有 DNA 外切活性，所以最好将其灭活以免干扰后续反应。
7. 典型实验结果。有扩增的样本将有平缓的 S 荧光曲线，无模板对照将没有此标准扩增曲线（见下图）或扩增曲线：



8. 若采用 30℃金属浴或水浴，必须在样品管中加入 50 μL 石蜡油以防水分蒸发，使用电泳检测或 PCR 检测是否有扩增。
9. 扩增所得 DNA 可以用于后续实验。

关联产品	全基因组扩增试剂盒（MALBAC 法）