

Single Cell Whole Genome Amplification Kit

目录号: E128

产品描述:

单细胞全基因组扩增试剂盒基于多重链置换扩增的 Phi29 DNA 聚合酶等温扩增体系, Phi29 DNA 聚合酶是从 *Bacillus subtilis* 噬菌体 Phi29 中克隆出的嗜温 DNA 聚合酶, 利用基因重组技术, 在大肠杆菌中进行表达后经多次纯化分离而得。Phi29 DNA 聚合酶具有很强的链置换活性, 可实现对 DNA 复杂结构的解链与复制。同时具有高效的 DNA 合成能力, 可连续合成多达 70kb 的 DNA 片段。Phi29 DNA 聚合酶具有很强的 3'→5' 外切酶活性, 保真度高于绝大多数高保真酶, 因此 Phi29 DNA 聚合酶特别适合用于全基因组扩增。

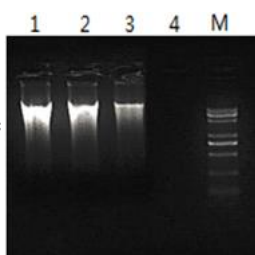
本试剂盒可以实现单个细胞或者少量样本的全基因组无差别扩增, 一个反应可以达到 40μg 的全基因组 DNA。低质量样品会影响 DNA 的最终产量, 如果以 DNA 样品为模板, 需避免使用降解的 DNA 作为起始模板。

产品特点:

- 高覆盖度: 经过扩增后可达到 95% 以上的覆盖度。
- 高均一度: 无偏好扩增, 可实现全基因组的均一扩增。
- 高保真: 具有很强的校正功能, 保真度高。
- 高灵敏: 可实现从单个细胞样本的全基因组扩增。

应用实例:

图例一) 以 HEK293 细胞为模板, 用单细胞全基因组扩增试剂盒进行扩增, 30℃ 反应 3h。
泳道 1: 100 个细胞全基因组扩增;
泳道 2: 10 个细胞全基因组扩增;
泳道 3: 1 个细胞全基因组扩增;
泳道 4: 阴性对照;
泳道 M: DNA Ladder 2000 Plus。



保存温度: -20℃。

产品包装:

产品组成	A 包装	B 包装
Cell Lysis Buffer	1ml	1ml×5
Neutralization Buffer	1ml	1ml×5
Reaction Buffer	1ml	1ml×5
GenomiPhi Buffer	250μl	1.25ml
GenomiPhi29 Enzyme (10U/μl)	50μl	250μl
ddH ₂ O	1ml	1ml×5

质量保证:

经过严格的质检检验, 该产品具有最高的活性和纯度。

操作方法:

适用于以 1-1000 个新鲜配制的细胞样品作为模板, 以保证起始基因组的完整性。

1) 将细胞用 PBS 洗涤三次。

2) 取一倍体积的细胞, 加入一倍体积的 Cell Lysis Buffer, 轻轻混匀 (勿涡旋混匀) 后置于冰上放置 10min。

3) 加入一倍体积的 Neutralization Buffer, 轻轻混匀, 勿涡旋混匀。

4) 从上述混合液中取 3μl 样品, 加入 7μl 无菌水, 10μl Reaction Buffer。如果不进行后续反应, 需冰上放置。

将 20μl 上述处理后的样品加入到 25μl GenomiPhi Buffer 中。

5) 加入 5μl GenomiPhi29 Enzyme, 30℃ 反应 3h。

6) 65℃, 10min 失活 GenomiPhi29 Enzyme。

7) 扩增产物是高浓度基因组 DNA, 需要将扩增产物用无菌水或者 TE 缓冲液进行稀释后进行下游实验。