天净沙系列

CAT#:240312

常温运输和保存，有低温成分

毛发线粒体 DNA 纯化试剂盒（沉淀法）

Hair Mitochondrial DNA Purification Kit

使用手册 V1.0

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

毛发的主要成分是角化蛋白，可以抵抗自然界中大多数的酶和化学物质，不易分解，正是因为毛发物证的不易破坏性、形态稳定性，毛发物证对于案件侦破具有关键作用。毛发分毛根、毛干、毛尖三部分。毛根含有染色体 DNA，但自然脱落的毛发根部含染色体 DNA 量极少。毛干部分含有线粒体 DNA，随着近年来测序技术的发展，通过毛干线粒体检测更加准确。目前市场上专门用于毛发样品 DNA 纯化的产品很少，为此本公司开发了本产品。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装，其中蛋白酶 K 溶液使用 logo 热封袋包装，低温运输

成分	编号	规格	包装
毛发 DNA 提取溶液 A	230136a	50 mL	60 mL 本色瓶
毛发 DNA 提取溶液 B	230136b	25 mL	30 mL 棕玻瓶
毛发 DNA 提取溶液 C	230136c	50 mL	60 mL 本色瓶
毛发 DNA 纯化还原剂	230136d	5 mL	5 mL 本色瓶
蛋白酶 K 溶液（10 mg/mL）	220137	1 mL	1.5 mL 红盖管
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	自封袋
cccDNA 纯化溶液 A	220502a	30 mL	30 mL 棕玻瓶
cccDNA 纯化溶液 B	220502b	10 mL	10 mL 棕玻瓶
cccDNA 纯化溶液 C	220502c	30 mL	30 mL 本色瓶
使用手册	240312sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输及保存（其中蛋白酶 K 溶液需要低温运输，-20℃保存。溶液 B 需要常温运输，4℃保存），有效期一年。

自备物品

1.5 mL 塑料离心管、2 mL 塑料离心管。

使用方法

1. 将 30-50 mg 左右头发充分剪碎成芝麻大小，将剪碎后样本转移到一个干净的 1.5 mL 塑料离心管中。注意：最好从靠近根部的地方剪取样品。
2. 加入 1 mL 毛发 DNA 提取溶液 A、50 μL 还原剂和 20 μL 蛋白酶 K 溶液（10 mg/mL），37℃保温 10 小时（一般过夜保温就可以）。注意：最好让反应体系处于摇晃状态，此保温长度一般可以让毛发溶化。
3. 加入 0.5 mL 的毛发 DNA 提取溶液 B，振荡器上振荡 30 秒充分混匀。
4. 12,000×g 室温离心 5 分钟，小心将上清转移到新的 2 mL 塑料离心管中。
5. 在上清液中加入等体积的毛发 DNA 提取溶液 C，上下颠倒 30 秒充分混匀。

	6. 将混合液分两次转移到离心吸附柱中。每次是先将 0.7-0.8 mL 混合液转移到离心吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000×g 室温 1 分钟，弃穿透液。再把剩余的一半上柱，重复此操作。 7. 将 0.7 mL 通用洗柱液加入到离心吸附柱中，12,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 8. 空甩离心吸附柱半分钟去除残留液体。 9. 将离心吸附柱放置在一新的 1.5 mL 塑料离心管中，加入 0.2 mL DNA 洗脱液（基因组 DNA 专用）。 10. 12,000×g 离心 1 分钟，管底即为头发 DNA 溶液。 11. 在 0.2 mL 含有 cccDNA 的头发 DNA 溶液中，加入 0.6 mL cccDNA 纯化溶液 A，充分吹打或振荡 2 分钟。 12. 加入 0.2 mL cccDNA 纯化溶液 B，振荡 1 分钟。 13. 室温 14,000×g 离心 3 分钟，小心将上清液（约 0.6 mL）转移到新的塑料离心管中。 14. 在离心管中加入等体积（0.6 mL）cccDNA 纯化溶液 C，充分颠倒混匀。 15. 室温 14,000×g 离心 15 分钟，小心弃上清，不要吸走管底微量的沉淀。 16. 加入 1 mL 自备的 75%乙醇后，立即室温 14,000×g 离心 1 分钟，小心弃上清，不要吸走管底微量的沉淀 17. 将离心管再次 14,000×g 离心半分钟，小心吸走残留的液体（约 50-100 μL）。 18. 加入 10-100 μL 超纯水或 TE 缓冲液，轻柔吹打溶解后可以立即用于后续实验。长期放置需要放-20℃。
关联产品	法医骨头 DNA 提取试剂盒（过柱法）