

外泌体 RNA 纯化试剂盒

产品组成

外泌体 RNA 纯化试剂盒	5 次制备	50 次制备
Cat. No.	5202005	5202050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Buffer TL	7.5 ml	75 ml
Buffer EX	1.2 ml	12 ml
Buffer WA (浓缩液)	1.5 ml	15 ml
Buffer WBR (浓缩液)	1 ml	10 ml
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml×2
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

Buffer TL 请于 2~8°C 储存。

产品如果储存于常温 (0~30°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒为从 100~200 μ l 分离的外泌体中回收浓缩 RNA 而设计。柱纯化技术可高效回收小片段 RNA，脂类、蛋白等物质被过滤除去。外泌体 RNA 最终被洗脱到 30~50 μ l 的微量体积中，并可立即用于外泌体 RNA 相关的各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管 (必须选用 RNase-free & RNase-free 的 1.5 ml 离心管)
3. 移液器吸头 (必须选用含有滤芯的 RNase-free & RNase-free 移液器吸头)
4. 一次性手套、纸巾及防护用品
5. 旋涡振荡器、有制冷功能的台式少量离心机 (可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子)

使用前准备

1. 涉及离心的操作步骤，如无特殊说明，请将温度设置到 25°C。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记

操作步骤

以下步骤是从 100 μ l 外泌体溶液中提取外泌体 RNA 的方法，如果外泌体溶液体积较大，请按比例增加 Buffer TL、Buffer EX 及无水乙醇的用量，其他洗涤或洗脱步骤的试剂（Buffer WA、Buffer WBR、RNase-free Water）用量不变。

1. 向外泌体溶液中加入 700 μ l Buffer TL，旋涡振荡混合均匀。

- * 按 7 倍外泌体溶液体积的量加入 Buffer TL，比如从 200 μ l 外泌体溶液中回收 RNA 时，则需要加入 1.4 ml Buffer TL。
- * 外泌体溶液小于 100 μ l 的，直接加 700 μ l Buffer TL。
- * 也可以直接加 700 μ l Buffer TL 到吸附有外泌体的柱子（比如 Qiagen 产品）上，5000 \times g 离心 5 分钟，收集被滤下的外泌体溶液，转移到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，按步骤 2 操作。

2. 加入 100 μ l Buffer EX，盖上管盖，用力摇晃 15 秒混合均匀。4 $^{\circ}$ C，12000 rpm 离心 15 分钟。

- * 按 1 倍外泌体溶液体积的量加入 Buffer EX，比如从 200 μ l 外泌体溶液中回收 RNA 时，则需要加入 200 μ l Buffer EX。
- * 外泌体溶液小于 100 μ l 的，直接加 100 μ l Buffer EX。

3. 吸取上清（约 450 μ l）转移到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，再加入 2 倍上清体积（约 900 μ l）的无水乙醇，颠倒离心管数次混合均匀。

4. 吸取 700 μ l 步骤 3 中的混合液转移到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

5. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，将步骤 3 中剩余的混合液转移到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
- * 如果从大于 200 μ l 体积的外泌体溶液中回收 RNA，请按同样方法将混合液分多次离心过柱，直至所有的混合液滤过纯化柱。

6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中。在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中。在核酸纯化柱中加入 800 μ l Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

8. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

- * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
- * 此步骤高速空离是为了去尽残留的乙醇，请勿省略，否则可能因所纯化的核酸中残留有乙醇而影响后续的实验效果。

9. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 30-50 μ l RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒洗脱 RNA。

- * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

10. 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70 $^{\circ}$ C 以下备用。