

产品使用说明书

外泌体 RNA 分离试剂盒

Exosome RNA Isolation Kit

Cat.# EXORNA50C-1
EXORNA30C-1

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd.

Version 2.0

01/01/2020

目 录

保存和应用	2
产品介绍	3
试剂盒组成和说明	3
操作方法	4
相关产品信息	6
常见问题	7
技术支持	8

保存与应用

【保存条件】

本试剂盒低温下运输，室温或 2-8°C 下保存至少一年（按照试剂盒不同成分分别保存），使用前请仔细阅读说明书。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

产品介绍

外泌体 (Exosome) 是由不同细胞分泌的直径 30-150nm 的胞外膜性囊泡 (Extracellular Vesicles, EVs)。外泌体普遍存在于多种体液中, 其内容物丰富, 包括蛋白质、脂质和核酸等, 在细胞间信息交流中发挥着重要作用, 主要参与免疫抗原呈递, 神经递质传递, 脂类代谢及细胞信号转导等过程, 并与多种疾病的发生、发展、治疗及预后密切相关。

研究表明, 胞外膜性囊泡 (包括外泌体) 内容物中富含不同类型 RNA (mRNA、microRNA、LncRNA、CircRNA 等)。microRNA (miRNA) 在基因转录和转录后调节方面起重要作用, 与疾病的发生、发展密切相关, 因此, 某些外泌体 miRNA (exo-miRNA) 可以作为疾病的新的治疗靶标和诊断生物标记物。

外泌体 RNA 分离试剂盒 (Exosome RNA Isolation Kit) 采用酚/胍盐方法提取已分离的外泌体中总 RNA (含有 miRNA), 这里外泌体分离方法可以包括超速离心、化学沉淀、免疫捕获和分子大小排阻等, 接下来采用核酸特异吸附柱 (Spin Columns), 可方便、快捷地纯化和洗脱外泌体 RNA, 可直接用于下游应用, 如 RT-qPCR, Northern blot, 芯片表达谱, NGS 测序等。

试剂盒组成和说明

产品组成 Cat.# EXORNA50C-1	含量	保存条件
裂解液 A (Lysis Buffer A)	20ml	2-8°C
裂解液 B (Lysis Buffer B)	10ml	RT
洗涤液 A (Wash Solution A)*	15ml	RT
洗脱液 A (Elution Solution A)	5ml	RT
吸附柱 (Spin Columns)/收集管 (Collection Tubes 2.0ml)	50 套	RT
1.5ml 离心管 (Centrifuge Tubes 1.5ml)	50 个	RT
产品组成 Cat.# EXORG30C-1	含量	保存条件
裂解液 A (Lysis Buffer A)	15ml	2-8°C
裂解液 B (Lysis Buffer B)	7ml	RT
洗涤液 A (Wash Solution A)*	15ml	RT
洗脱液 A (Elution Solution A)	5ml	RT
吸附柱 (Spin Columns)/收集管 (Collection Tubes 2.0ml)	30 套	RT
1.5ml 离心管 (Centrifuge Tubes 1.5ml)	30 个	RT

*使用前先在每瓶洗涤液 A (Wash Solution A) 中加入 45ml 无水乙醇, 混匀, 并在瓶标签上标记“√”, 每次使用后立即盖紧瓶盖。

【注意事项】

1. 除了裂解液 A（Lysis Buffer A）保存在 2-8°C 外，其余试剂盒和耗材保存在室温下(15-25°C)，自购买之日起有效期至少一年。裂解液 A 在使用前检查是否有盐沉淀，**建议在使用前 37°C 水浴 10 分钟**，混合均匀，无沉淀，溶液清澈。
2. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：
 - 经常更换新手套，防止皮肤表面 RNase 污染。
 - 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
 - RNA 释放后在裂解液中不会被 RNase 降解，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料盒或玻璃器皿，玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4h，塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除 RNase。
 - 配制溶液应使用无 RNase 的水（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1% (v/v)，放置过夜，高压灭菌）。
3. 需要自备试剂：**96-100% 乙醇**。

操作方法

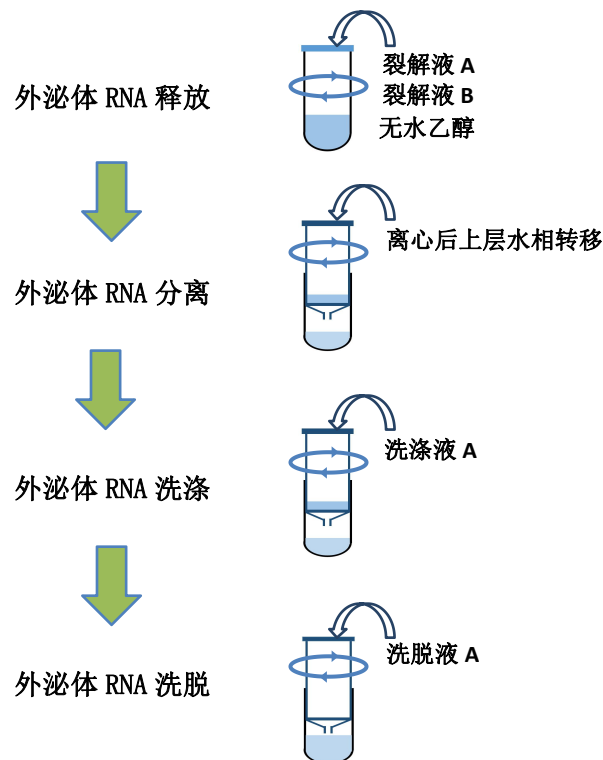


图 1 简单操作流程图

注意：使用前先在每瓶洗涤液 A (Wash Solution A) 中加入 45ml 无水乙醇，混匀，并在瓶标签上标记“√”，每次使用后立即盖紧瓶盖。

1. 外泌体 RNA 释放

- 取 300 μ l 分离的外泌体溶液，加入等体积(300 μ l)的裂解液 A，涡旋振荡 30sec，室温放置 5min，使得核酸蛋白复合物完全分离。
- 室温 12,000 \times g 离心 10min，取上清，转入一个新的无 RNase 的离心管中。
- 加入 150 μ l 裂解液 B，盖好管盖，剧烈振荡 15sec，室温放置 5min。室温 12,000 \times g 离心 15min，样品会分成三层：黄色的有机相，中间层和无色的水相，RNA 主要在水相中（上层），把水相转移到新管中(避免吸取中间层)，进行下一步操作。
- 量取转移液的体积，缓慢加入 1.5 倍体积预冷的无水乙醇（如 400 μ l 的转移液加 600 μ l 无水乙醇），混匀（此时可能会出现沉淀）后室温静置 5-10min。

注意：样本及裂解液 A 在使用前应恢复室温，为了提高提取效率建议裂解液 A 使用前 37 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟后使用。当裂解液 A 加入后出现核酸蛋白复合物未完全解离的现象，可额外补加 100 μ l 裂解液 A。

2. 外泌体 RNA 分离

将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱中（吸附柱放入收集管中，当溶液总体积超过 700 μ l 时，可分两次完成），室温放置 2min，室温 8,000 \times g 离心 30sec，离心后弃掉滤液，保留吸附柱。

3. 外泌体 RNA 洗涤

向吸附柱加入 500 μ l 洗涤液 A（请检查是否已加入指定量的无水乙醇），室温 8,000 \times g 离心 30sec，倒掉收集管中的滤液，将吸附柱放入收集管中。重复洗涤 1 次后，空柱室温 12,000 \times g 再离心 2min，去除残余液体。打开吸附柱盖子，将吸附柱置于室温放置数分钟（5-10min），以彻底晾干吸附材料中残余的洗涤液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中的残余的洗涤液去除，洗涤液中的乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

4. 外泌体 RNA 洗脱

将吸附柱转入 1.5 ml 离心管中（试剂盒提供），向吸附柱中间位置悬空滴加 50-200 μ l 洗脱液 A，室温放置 2-5min，室温 12,000 \times g 离心 2min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱液体积不应小于 50 μ l，体积过小影响回收效率，为增加 RNA 的得率，可将离心

得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2min，12,000×g 离心 2min。洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率，且 RNA 产物最好立即使用，或保存在-80℃，以防止 RNA 降解。

相关产品信息

外泌体提取和纯化	
外泌体提取试剂盒(血清/血浆)	EXORG50A-1/EXORG30A-1
外泌体提取试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXORG24B-1/EXORG10B-1
外泌体提取和纯化试剂盒(血清/血浆)	EXORG10SP-0.5/EXORG10SP-1.0
外泌体浓缩试剂盒（细胞培养上清或尿液）	EXOCon10-10/EXOCon05-10
外泌体捕获和分离试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXOMCUCD9-10/EXOMCUCD63-10/EXOMCUCD81-10/EXOMCUCom-10
外泌体捕获和分离试剂盒（血清/血浆）	EXOMSPCD9-10/EXOMSPCD63-10/EXOMSPCom-10
外泌体核酸分离	
外泌体 DNA 分离试剂盒	EXODNA50C-1/EXODNA30C-1
外泌体提取和 DNA 分离试剂盒（血清/血浆）	EXODNA50A-1/EXODNA30A-1
外泌体提取和 DNA 分离试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXODNA20B-1/EXODNA10B-1
外泌体 RNA 分离试剂盒	EXORNA30C-1/EXORNA50C-1
外泌体提取和 RNA 分离试剂盒（血清/血浆）	EXORNA50A-1/EXORNA30A-1
外泌体提取和 RNA 分离试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXORNA20B-1/EXORNA10B-1

常见问题

Q1: 提取外泌体 RNA 时，需要在什么温度下离心？

A1: 所有离心步骤须在室温下操作，在 4°C 时离心会降低 RNA 的产量。

Q2: 提取的外泌体 RNA 中有 DNA 污染？

A2: 外泌体裂解分相时，RNA 在上层水相中，而 DNA 在中间层，转移上层水相时，要注意不要吸到中间层，所以要保留部分水相，不要全吸取。

Q3: 提取的外泌体 RNA 下游应用时，如 RT-PCR 不是很好？

A3: 洗脱的外泌体 RNA 中含有乙醇和/或较多盐离子污染，会抑制 PCR 反应，所以在最后洗涤时，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的洗涤液。

Q4: 如何定量提取的外泌体 RNA？

A4: 外泌体 RNA 含量较少（1-100 pg/μL），所以，用常规定量 RNA 方法是很难的，并且不同样本外泌体含量不同，含有的 RNA 量也不同。一般定量 RNA 方法有：

- 1) Bioanalyzer RNA Quantification kits
- 2) NanoDrop 2000
- 3) Quant-iT™ RiboGreen® RNA Assay Kit
- 4) qPCR Standard Curve

Q5: 为什么提取的外泌体 RNA A260/280 低于 2.0？

A5: 大部分外泌体 RNA 是小 RNA，且浓度很低，RNA 的 A260/280 比值会随 RNA 浓度降低而降低，正常 A260/280 比值在 1-1.6 之间，低的 A260/280 比值不会影响下游应用。

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：<http://www.rengenbio.com>

同时可通过电话或 Email 接触技术支持。

辽宁润基生物科技有限公司

地址：辽宁省沈阳市铁西区经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼

邮编：110027

电话：024-31086590

传真：024-31086589

邮箱：公司信息 info@rengenbio.com

技术支持 support@rengenbio.com

产品订购 order@rengenbio.com



微信公众平台



外泌体科研交流平台