

外泌体 RNA 提取试剂盒

产品编号	产品组成	规格	保存条件
FRE-04	RNA 提取试剂 (TRIZOL)	100 ml	4 °C
	Buffer BL (平衡液)	30 ml	4 °C
	Elution Buffer R (洗脱液)	10 ml	4 °C
	RNA 纯化柱 (中)	30 套	4 °C
	说明书	1 份	

一、运输与存储。

本产品常温运输，4 °C 保存，有效期 1 年。

二、注意事项 (实验前阅读)。

1. 转移上层水相时若吸入中间层或下层液体，则导致 DNA 或蛋白污染，降低 RNA 纯度。
2. RNA 纯化柱 (中提型) 平衡后尽快使用，不可长时间放置。
3. 检测 RNA 时，260 nm、320 nm、230 nm 和 280 nm 处吸光度值的分别代表了核酸、背景 (溶液浑浊度)、盐浓度和蛋白质等物质的吸光度值。OD260/OD280 (R) 体现了 RNA 的纯度，质量较好的 RNA 的 R 值应该在 2.0~2.2 之间。当 R<2.0 时，RNA 溶液中可能存在 DNA 污染；当 R<1.8 时，RNA 溶液中可能存在蛋白质污染；当 R>2.2 时，说明 RNA 已经被降解成了单核苷酸。
4. 请穿好实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜，避免试剂飞溅导致的皮肤、眼睛或者呼吸道等部位的化学灼伤。如果不慎接触皮肤或者眼睛，请立即用大量水冲洗，必要时去医院护理。

三、产品简介。

本产品是一款将 TRIZOL 和 RNA 纯化柱(中提型)结合,专门提取外泌体 RNA 的试剂盒。借助 TRIZOL 的高效裂解能力,以及 RNA 纯化柱的吸附效果,试剂盒可以从外泌体溶液等体积较大, RNA 丰度较低的样品中提取 RNA。

四、特点与优势。

- 1) 解决了 TRIZOL 提取 RNA 过程中 RNA 沉淀不易看见的问题,便于外泌体等样品中的 RNA 提取。
- 2) RNA 纯化柱为中型纯化柱,上样量大,能够减少实验流程,节省时间。
- 3) 提取 RNA 的完整性和纯度优于 TRIZOL 试剂。

五、自备试剂与耗材。

75%乙醇,异丙醇,氯仿,15 ml 离心管和枪尖。

六、使用说明。

1. 纯化柱平衡。将 RNA 纯化柱(中提型)转入 15 ml 离心管,并加入 1 ml Buffer BL(平衡液),转入离心机,4 °C,10 000 rpm(约 11 000g),离心 1 min,弃滤液。
2. 样品裂解。吸取 1 ml 的外泌体溶液,转入 15 ml 的离心管,加入 3 ml 的 TRIZOL 试剂,颠倒混匀。
3. 加入混合溶液体积 1/5 的氯仿(0.8 ml),颠倒混匀 20 次(不可剧烈震荡,不可 vortex 混匀。剧烈震荡将导致 DNA 污染)。
4. 10,000 rpm(约 11 000 ×g),4 °C,离心 10 min,样品分为三层, RNA 集中在上层的无色水相中, DNA 集中在中间层,而蛋白集中在下层的淡紫红色液相中。
5. 转移上层水相至新的 15 ml 离心管(约 2.5 ml 上清。部分上清无法有效吸取,可以舍弃,以免吸取中间的白色层,导致基因组 DNA 污染),加入等体积的异丙醇(约 2.5 ml),颠倒混匀 10-20 次。
6. 将混合液体(约 5 ml)转入平衡后的 RNA 纯化柱(中提型),转入离心机,10,000 rpm(约 11 000 ×g),4 °C,离心 1 min。
7. 向 RNA 纯化柱(中提型)中加入 3 ml 75%乙醇,转入离心机,10,000 rpm(约 11 000 ×g),4 °C,离心 2 min。
8. 取出 RNA 纯化柱(中提型),转入新的 15 ml 离心管,并向纯化柱的膜中央滴加 100 μl Elution Buffer R (RNA 洗脱液),室温静置 2 min。
9. 转入离心机,10,000 rpm(约 11 000 ×g),4 °C,离心 30 sec。滤液转入新的 1.5 ml EP 管,即为提取的外泌体 RNA 溶液。
10. 立即用于反转录实验,或保存于-80 °C冰箱。

七、提取 RNA 鉴定。

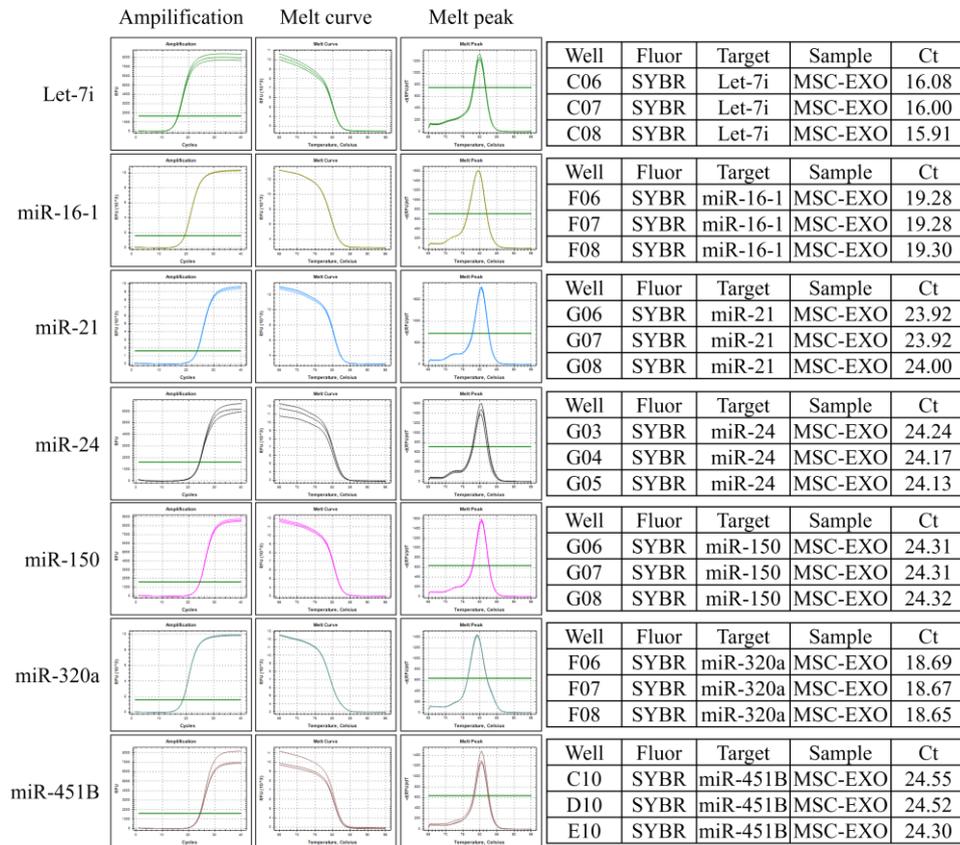


图 1. 脐带间充质干细胞外泌体 RNA 提取效果鉴定（实时荧光定量 PCR 法）

八、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
提取的 RNA 降解	样品反复冻融或保存不当	尽量使用新鲜的样品，避免反复冻融。
	耗材存在 RNA 酶污染。	选择使用 RNase-free 的耗材，或将耗材进行 RNase 清除处理。
	没有在低温环境下操作。	请在冰上或冰水混合物中提取 RNA。
	细胞消化过度。	收集细胞时缩短胰酶消化时间。
	RNA 洗脱液含有 RNase	选择使用 RNase-free 的洗脱液或 ddH ₂ O。
提取的 RNA 浓度低	保存条件不当。	提取的 RNA 尽快保存在 -80 °C，而不是 -20 °C。
	样品量过低。	增加样品量。
	洗脱体积偏大。	减少洗脱液体积。
	洗脱液孵育时间偏短	洗脱液加入 RNA 纯化柱后，室温放置 3-5 min。
试剂盒过期	使用保质期内的产品	
提取的 RNA 中出现基因组 DNA 污染	转移上层水相时，吸入中间层白色沉淀。	减少吸取上层液相，不要吸入中间层白色沉淀。