

TransExo™ Serum/Plasma Exosome miRNA Extraction Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FE301

保存: EPS 2-8°C保存一年, ELB 2-8°C避光保存一年, 其余室温 (15-25°C) 干燥条件下保存一年。

产品说明

TransExo™ Serum/Plasma Exosome miRNA Extraction Kit是一种针对血清/血浆外泌体中miRNA提取的试剂盒, 具有操作简便、快速、提取量高的优点, 提取的miRNA适用于qPCR等多种检测方式。

特点

- 操作简单, 无需超速离心。
- 提取量大, 纯度高, 适用于多种检测。

试剂盒组成

Component	FE301-02 (50 rxns)
Exosome Precipitation Solution (EPS)	2×1.25 ml
Exosome Lysis Buffer (ELB)	30 ml
Exosome Wash Buffer (EWB)	2×6 ml
RNase-free Water	10 ml
RNase-free Tubes (1.5 ml)	50 tubes
RNA Spin Columns with Collection Tubes	50 tubes
miRNA Spin Columns with Collection Tubes	50 tubes

操作步骤

请提前将低温离心机调至2-8°C, 每瓶EWB使用前加入24 ml无水乙醇。

准备试剂: 氯仿、无水乙醇。

- 1、收集血清/血浆样品, 2-8°C, 3,000×g 离心15分钟去除样品中残留的细胞和碎片。
- 2、每200 μl血清/血浆样品加入50 μl EPS混匀, 2-8°C静置30分钟, 10,000×g离心10分钟。
- 3、弃上清, 收集沉淀, 再次10,000×g离心5分钟或者2-8°C, 3,000×g离心30分钟, 小心弃去残余上清。
- 4、加入500 μl ELB, 用移液器轻轻吹打重悬沉淀, 尽量使沉淀全部溶解 (可能会有小部分无法溶解的淡黄色磷脂, 不影响最终结果)。
- 5、加入0.2倍体积氯仿, 剧烈震荡30秒, 室温孵育3分钟。
- 6、2-8°C, 10,000×g离心15分钟, 此时样品分成3层, 分别为无色的水相 (上层)、中间层和粉红色的有机相 (下层)。RNA主要集中在水相, 约占所用ELB体积的 50%-60%。
- 7、转移无色水相到新的离心管中 (为避免吸到中间层, 可以适当保留一部分水相), 加入1/3体积的无水乙醇 (如600 μl 转移液加入200 μl无水乙醇; 此时可能会出现沉淀) 轻轻颠倒混匀。

此后离心均可在室温中进行。

- 8、将所得到的溶液和沉淀一起加入RNA Spin Column中, 室温12,000×g离心30秒, 保留流出液。
- 9、准确测量流出液体积, 转移到干净的1.5 ml或2 ml RNase-free离心管中, 加入1.25倍流出液体积的无水乙醇 (如650 μl 流出液, 加入812.5 μl的无水乙醇; 此时可能会出现沉淀), 轻轻颠倒混匀。
- 10、将得到的溶液和沉淀一起加入miRNA Spin Column中, 室温12,000×g离心30秒, 弃掉流出液。若溶液体积大于miRNA Spin Column所能容纳体积, 重复步骤直到液体加完为止。



- 11、加入500 μ l EWB（用之前请检查是否已经添加了无水乙醇），室温12,000 \times g离心30秒，弃掉留出液。
- 12、重复步骤11（可选）。
- 13、室温12,000 \times g离心2分钟，彻底去除残留的乙醇。
- 14、将 miRNA Spin Column 放入1.5 ml RNase-free Tube中，加入20-30 μ l RNase-free Water在离心柱的中央，室温静置1分钟。
- 15、室温12,000 \times g离心1分钟，洗脱miRNA。
- 16、miRNA建议分装后保存于-80 $^{\circ}$ C。

注意事项

- 本产品适用的血浆样品不能使用肝素抗凝剂。
- 获得血清/血浆样品后，按照单次使用量进行分装，于-80 $^{\circ}$ C冻存，避免反复冻融。
- 加入氯仿后要充分震荡，保证抽提效果。
- 实验所有有机试剂、离心管、枪头等均要保证RNase-free。
- 本方法单次所得miRNA含量较少，不适合用普通分光光度计测量浓度。
- 不同物种、不同状态血清/血浆中外泌体miRNA的种类、含量均有可能存在较大差异，请合理设置实验组和对照组，使采集到的数据真实可信。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

