



Micro Exosome Total RNA Extraction Kit

Catalog#JKR23013-20T

Instruction Manual

Sufficient reagents for 20 Micro Exosome Total RNA Extraction per kit.

Store at 4°C

目录

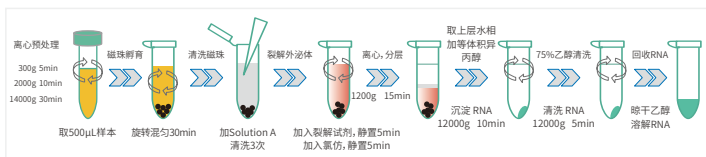
1. 实验原理	02
2. 实验流程	02
3. 试剂盒组分	02
4. 操作步骤	03
5. 注意事项	05



1. 实验原理

本产品是一款磁珠法外泌体RNA提取试剂盒，是由亲和磁珠捕获高纯度外泌体，再通过裂解RNA过高效回收柱的方式，专用于外泌体微量RNA的提取，具有提取效率高、提取的RNA种类多、回收的miRNA含量高等特点。本试剂盒提取的外泌体RNA可用于RT-qPCR、核酸杂交和RNA-seq等分析。

2. 实验流程



3. 试剂盒组分

组分	容量 (20T)	保存温度
WisMag Exosome Beads V2	2mL	4°C
Extraction Buffer	10mL	4°C
Solution A	100mL	4°C
RNA Washing Buffer	10mL	4°C
TE Buffer	1.25mL	4°C
RNA Spin Column	20EA	RT
Collection Tubes (2mL)	20EA	RT
1.5mL Nuclease-Free Tubes	50EA	RT

保存条件

本试剂盒在推荐条件下保存，保质期 12 个月。

适用样本

适用于各种外泌体样本的RNA提取，最常用于血清、血浆、细胞培养上清和尿液等，其他样本类型请咨询我司技术支持。

自备仪器、试剂与耗材

- 高速冷冻离心机、侧摆摇床
- 磁力架、移液器、离心管
- 异丙醇、氯仿、无水乙醇

4. 操作步骤

4.1 准备工作

- 1) 将试剂盒中4°C保存组分 (WisMag Exosome Beads V2、Solution A、Extraction Buffer、RNA Washing Buffer、TE Buffer) 从冰箱拿出，恢复至室温。
- 2) 试剂盒第1次使用时，向RNA Washing Buffer (10mL)中加入40mL无水乙醇，混匀，并做标记。后续使用时，确保RNA Washing Buffer中已添加无水乙醇。

4.2 样品预处理

- 1) 去除细胞。4°C，300g，离心 5min，转移上清到新的离心管；
注：对无细胞的样品，可以跳过此步骤。
样本避免冻融导致细胞破碎。
- 2) 去除细胞及细胞碎片。4°C，2,000g，离心 10min，转移上清到新的离心管；
注：转管时吸头不能触底，慢吸慢打，避免吸到细胞。
- 3) 去除大体积颗粒。步骤 2) 得到的上清，4°C，14,000g，离心 30min，转移上清到新的离心管。
注：去除大体积颗粒（大囊泡）的替代方法：将步骤 2) 得到的上清，经0.2μm微孔滤膜过滤，收集滤出液。

4.3 富集外泌体

- 1) 取100 μ L WisMag Exosome Beads V2到1.5mL离心管,置于磁力架上1min,吸弃磁珠保护液;
- 2) 向上述磁珠中加入500 μ L经预处理后的样品(如果不足500 μ L,可用Solution A补足),离心管固定在侧摆摇床上,17rpm,室温旋转孵育30min;
注:在某些样本中,磁珠可能会结团,但不影响分离效果,请放心使用。
- 3) 置于磁力架上,静置30s,弃上清;
- 4) 加入1mL Solution A,上下颠倒混匀(避免剧烈振动),置于磁力架上,静置30s,弃上清;
- 5) 重复上述步骤4) 2次,保留磁珠。

4.4 外泌体裂解

- 1) 向磁珠中,加入0.5mL Extraction Buffer(主要成分为Trizol,注意防护),冰上静置5min;
- 2) 加入100 μ L氯仿,盖紧管盖,剧烈振荡15s,冰上静置5min;
氯仿可由低毒性的RNA Extraction Agent (WSR0014) 替代。
- 3) 4 $^{\circ}$ C, 12000g, 离心15min;
离心后,溶液分为三层(从上往下,分别是水相层、中间层、有机相层),RNA存在于水相层中。
- 4) 转移250 μ L水相至RNase-free 离心管中,加入375 μ L异丙醇,上下颠倒混匀,室温静置30min。
水相体积约为所加Extraction Buffer体积的60%,建议转移约250 μ L水相,以防吸到中间层造成DNA污染。

4.5 RNA柱回收

- 1) 将上述溶液转移到RNA Spin Column中,12,000g离心30s,弃掉流出液。若溶液体

- 积大于RNA Spin Column所能容纳体积,重复步骤直到液体加完为止;
- 2) 加入500 μ L RNA Washing Buffer (确保已加入无水乙醇), 4 $^{\circ}$ C, 12,000g离心30s, 弃掉流出液;
 - 3) 12,000g离心2min, 彻底去除残留乙醇, 无需额外晾干步骤;
 - 4) 将RNA Spin Column放入1.5mL Nuclease-Free Tube中, 在膜中央滴加30 μ L TE Buffer, 室温静置1min;
 - 5) 室温, 12,000g, 离心1min, 洗脱RNA;
 - 6) RNA建议分装后, 保存于-80 $^{\circ}$ C。

5. 注意事项

- 1) Extraction Buffer中含有苯酚, 具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会引起中毒、灼伤及其他身体伤害。如果不小心接触到眼睛时, 应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗;
- 2) RNA提取操作需要在冰上进行;
- 3) RNA提取所用到的耗材, 都要预防RNase酶污染; 所用到的溶液应使用RNase-free Water配制;
- 4) RNA半衰期比较短, 易降解建议提取后尽快进行续实验;
- 5) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。



武汉金开瑞生物工程有限公司

WUHAN GENE CREATE BIOLOGICAL ENGINEERING CO., LTD.

地址：武汉市东湖新技术开发区高新大道666号生物城创新园B4栋二楼

电话：027-87960366

邮箱：marketing@genecreate.com

网址：www.genecreate.cn

