



外泌体 RNA QC 试剂盒

产品描述

本产品是一款外泌体 RNA 质控试剂盒, 适用于人、小鼠和大鼠来源的外泌体 RNA 质量控制。由于外泌体中含有 RNA 分子, 该试剂盒也可用于外泌体质量表征, 即评估外泌体本身的质量和纯度。

本产品通过反转录外泌体 RNA, 并采用 SYBR Green I 荧光法 qPCR 进行检测。经过大量研究, 筛选出 2 个阳性外泌体 RNA 靶标 (QC Assay A1 和 B1, 为阳性 RNA 靶标的扩增引物) 和 1 个阴性靶标 (QC Assay C1, 用于检测细菌污染的扩增引物), 用于评估外泌体 RNA 的质量。

本试剂盒采用高效的 III 代 RT 酶和 Hotstart Taq DNA 聚合酶, 能有效抑制非特异性反应, 实现更广泛范围的准确定量。实时检测扩增产物, 显著提高检测灵敏度, 省略了 PCR 后的电泳步骤, 非常适合外泌体 RNA 的检测。

订购信息

产品名称	货号	规格
外泌体 RNA QC 试剂盒	AC25L512	10T
外泌体 RNA QC 试剂盒	AC25L513	100T

产品组分

组分	AC25L512	AC25L513
A. RT Enzyme Mix(10×)	20μL	200μL
B. RT Reaction Buffer(2×)	100μL	1mL
C. SYBR Green Fast qPCR Mix(2×)	600μL	6×1mL
D. dNTPs (10mM each)	10μL	100μL
E. QC RT Primers	10μL	100μL
F. QC Assay A1	20μL	200μL
G. QC Assay B1	20μL	200μL
H. QC Assay C1	20μL	200μL
I. DEPC-treated Water	1.25 mL	2×1.25 mL

运输与保存

蓝冰运输。-20°C 避光保存, 有效期 12 个月。

使用方法

自备仪器、试剂与耗材:

PCR 仪、qPCR 仪、掌上离心机、移液器;
离心管、PCR 板/排/管(适配 qPCR 仪);



高质量外泌体 RNA

1. 准备工作

- (1) 将试剂盒 (除 RT Enzyme Mix (10×) 和 qPCR Mix 外) 从 -20°C 取出, 恢复至室温。
- (2) 其他组分解冻后, 将外泌体 RNA、RT Enzyme Mix (10×) 和 qPCR Mix 从冰箱中取出, 置于冰上备用。
- (3) 准备无污染的枪头、微量离心管等耗材。

2. 实验设计

样本类型	阳性靶标 A	阳性靶标 B	阴性靶标 C
人、小鼠、大鼠的组织或细胞 RNA(作为阳性对照)	○	○	○
待检外泌体 RNA 1	○	○	○
待检外泌体 RNA 2	○	○	○
.....	○	○	○
无模板对照 (NTC)	○	○	○

3. 反转录

- (1) 在冰上按下述推荐加入各组分到 RNase-free PCR 管中, 混匀并瞬时离心:

组分	加入体积	终浓度
RT Reaction Buffer(2×)	10μL	1×
RT Enzyme Mix(10×)	2μL	1×
dNTPs (10mM each)	1μL	0.5mM
QC RT Primers	1 μL	0.02μM
Total RNA*	5μL	0.01-300ng
DEPC-treated Water	To 20μL	NA

备注*: ①根据实验要求加入合适的 RNA 量。RNA 体积较大时, 确保 RNA 中不含高浓度 EDTA, 否则会抑制反应。

②含有高 GC 或复杂二级结构的 RNA, 可以 65°C 5 min 变性处理, 迅速置于冰上后, 再进行反转录反应。

- (2) 将各组分加入到 PCR 板/排/管中, 涡旋混匀, 瞬时离心。

- (3) 按下表参数, 在 PCR 仪上设置反应程序:

温度	时间
50°C	15min
85°C	5min
4°C	Hold

- (4) 反应结束后, 反转录产物 (RT 反应液)可立即进行后续 qPCR 反应, 或置于-20°C保存并在半年内使用; 长期存放, 建议分装后在-80°C 保存, cDNA 应避免反复冻融。



4. qPCR 检测

(1) 按下表配制反应体系:

组分	加入体积			终浓度
	阳性靶标 A	阳性靶标 B	阴性靶标 C	
SYBR Green Fast qPCR Mix (2x)	10 μ L	10 μ L	10 μ L	1 \times
QC Assay A1 *	1 μ L	/	/	0.2 μ M
QC Assay B1 *	/	1 μ L	/	0.2 μ M
QC Assay C1 *	/	/	1 μ L	0.2 μ M
CDNA**	2 μ L	2 μ L	2 μ L	NA
DEPC-treated Water	To 20 μ L	To 20 μ L	To 20 μ L	NA

备注*: 检测阳性靶标 A 时, 在反应体系中加入 QC AssayA1; 检测阳性靶标 B 时, 在反应体系中加入 QC AssayB1; 检测阴性靶标 C 时, 在反应体系中加入 QC Assay C1。

备注 **: 此处 CDNA 既可以是上一步待检外泌体的 RNA 反转录样本; 也可是上一步阳性对照的 RNA 反转录样本; 或用 DEPC-treated Water 作为无模板对照(NTC)。

(2) 将各组分加入到 PCR 板/排/管(适配 qPCR 仪)中, 涡旋混匀, 瞬时离心后准备上机。

(3) 按下表参数, 设置 qPCR 反应程序:

步骤	温度	时间	循环数
预变性	95 $^{\circ}$ C	5min	1
循环反应	95 $^{\circ}$ C	5s	40-45
	60 $^{\circ}$ C	30s	
熔解曲线	仪器自动设置	NA	1

(4) 反应结束后确认扩增曲线和熔解曲线, 并对数据进行分析。

5. 数据分析

(1) 按下表形式, 记录各样本不同靶标的 Cq 值和熔解曲线数据:

组分	阳性靶标 A		阳性靶标 B		阴性靶标 C	
	Cq 值	熔解峰, Tm	Cq 值	熔解峰, Tm	Cq 值	熔解峰, Tm
人、小鼠、大鼠的组织或细胞 RNA(阳性对照)	实测	单峰, 81.5 $^{\circ}$ C	实测	单峰, 85.8 $^{\circ}$ C	实测	NA (87 $^{\circ}$ C)
待检外泌体 RNA 1	实测	实测	实测	实测	实测	实测
待检外泌体 RNA 2	实测	实测	实测	实测	实测	实测
.....	实测	实测	实测	实测	实测	实测
无模板对照 NTC	NA	NA	NA	NA	NA	NA

(2) 根据上述数据, 判断各外泌体样品的 RNA 质量:

待检外泌体 RNA 的熔解峰与阳性对照相同, 且阴性靶标 C 和各靶标 NTC 无扩增(或仅有引物二聚体熔解峰, 或 Cq 值大于 35), Cq 值越小表示外泌体 RNA 质量越好。



(3) 根据应用场景差异, 判断外泌体 RNA 是否满足要求:

组分	阳性靶标 A		阳性靶标 B		阴性靶标 C	
	Cq 值	熔解峰, Tm	Cq 值	熔解峰, Tm	Cq 值	熔解峰, Tm
RT-qPCR	≤25	单峰, 81.5°C	≤28	单峰, 85.8°C	>35	NA (87°C)
RNA-seq	≤20	单峰, 81.5°C	≤24	单峰, 85.8°C	>35	NA (87°C)

注意事项

1. 本试剂盒适用于人、小鼠、大鼠来源的外泌体 RNA 质控和外泌体表征。如需检测其他样本类型, 请咨询我司技术支持。
2. 反应 Buffer 在使用前请充分融解、混匀, 避免强光直射, 并注意避光保存。
3. Enzyme Mix 含高浓度甘油, 使用前轻轻混匀和瞬时离心。使用后立即放回-20°C。
4. 反应液的配制和分装建议使用无污染的气枪头、离心管, 尽量避免污染。
5. 为保证反应有效进行, 建议使用高质量的 RNA 模板。
6. 如 qPCR 仪需 ROX 校正, 加入相应的 ROX: 如不加入, 将荧光内参设置为“None”后再进行数据分析。
7. 温馨提示: 扩增反应后, 一定不能打开 PCR 板/排/管, 否则气溶胶污染会干扰下次检测。
8. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
9. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。

相关产品推荐

外泌体浓缩液 (货号: AC25L166)

Quick Cell 外泌体提取试剂盒 (细胞上清专用) (货号: AC15L412)

外泌体分离试剂盒 (SEC 法) (货号: AC25L434)

外泌体分离试剂盒 (磁珠法) (货号: AC25L422)

外泌体示踪试剂盒 (货号: AC25L166)