

外泌体提取试剂盒（乳液）

货号：EX0013

规格：20T

保存：常温保存，有效期 2 年。使用前请充分混匀。

产品内容：

产品名称	规格
Solution A	50mL
Solution B	50mL
Solution C	50mL
Solution D	100mL
50mL 离心过滤柱	20 个

产品简介：

外泌体是由细胞分泌的包含 RNA 和蛋白质的小囊泡（30–150 nm），在血液、唾液、尿液及乳汁等体液中大量存在。外泌体被认为具有细胞间信使的功能，在特定细胞之间传递它们的效应物或信号分子；然而其构造、效应物组成以及所参与的生物学通路目前尚不明晰。

外泌体的生物学功能研究中需要分离完整的外泌体颗粒，而传统超速离心方法步骤繁琐、硬件要求高、操作难度大。索莱宝生物开发的外泌体快速提取试剂盒，组分经过优化处理，适用于乳液中的外泌体提取，可快速高效地获得高纯度外泌体颗粒，可用于电镜分析、NTA 粒径分析、核酸分析、蛋白分析、细胞学实验和动物实验等。

自备材料：

高速离心机（可达到 10000g 离心力），涡旋振荡器；50mL 离心转子，50mL 离心管，2mL 离心转子，1.5 mL 离心管，PBS 缓冲液。

使用说明：

1. 样品预处理

- 1) 取样：如果是冻存样品，从冰箱取出后于 25℃ 水浴中进行解冻，将完全融化后的样品置于冰上；如果是新鲜样品，收集样品后置于冰上。
- 2) 样品初始用量：单次提取时的乳液最佳体积为 50ml。
- 3) 离心去脂：将样品转移至离心管中，于 4℃ 以 10000g 离心 20 min，去除样品中的脂质及部分蛋白；（注：离心后样品分为三层，上层为脂质层，下层为蛋白沉淀，中间层为乳清。离心后上层状态为“致密、稳定、不易脱落”，若上层“松软、易脱落”且下层沉淀较多，可继续重复此步骤，每次离心取中间层液体）。
- 4) 乳清转移：将去除脂质的乳清（中间层液体）转移至新的 50mL 离心管中；（注：可用枪头将上层脂质戳破后缓慢倾倒，或用桐液器转桐，转桐后的乳清中带有少量脂质和沉淀是正常现象，不影响后续实验）。

2. 去除杂蛋白

- 1)乳清澄清：乳清中加入 Solution A，将离心管颠倒混匀至呈现“半透明状”，再加入 Solution B，颠倒混匀后于 2℃至 8℃静置 10min；（注：静置完成后轻轻晃动离心管，呈现“豆花状”固体，液体部分为“透明状”。若未呈现“豆花状”或样品仍为“乳白色”，可再适当加入 Solution B 至液体为透明状“透明状”）。

乳清体积	Solution A	Solution B
40ml	4ml	3ml

注：具体加入剂量请根据上表等比例换算

- 2)离心去蛋白：将澄清后的乳清于 4℃以 10000g 离心 10 min，收集上清液。
- 3)上清液过滤：将收集的上清液转移至 50mL 离心过滤柱中，于 4℃以 3000g 离心 2 min。（注：若未过滤完全，可重复此步骤。50mL 离心过滤柱为一次性耗材，不建议重复使用）。
- 4)将过滤后的上清液转移至新离心管中，加入 Solution C 后颠倒混匀；（注：Solution C 加入剂量和 Solution B 剂量保持一致）

离心过滤后样本体积	Solution C 剂量
40ml	3ml

3. 提取外泌体：

- 1)上清液预处理：在加入 Solution C 后的上清液中加入 Solution D，具体加入剂量如下：

样品剂量	加入 Solution D 剂量
40ml	10ml

注：其他剂量请根据上表等比例换算

- 2)溶液混合：加入 Solution D 后将离心管盖紧，通过涡旋振荡器混匀 1 min，再放置于 2℃至 8℃静置至少 2 h；（注：增加静置时间可提高外泌体得率，但静置时间不可超过 24h）。
- 3)沉淀外泌体：取出装有混合液的离心管于 4℃以 10000g 离心 60 min，弃上清，沉淀中富含外泌体颗粒；（注：尽可能吸净上清液）。
- 4)外泌体重悬：取 1×PBS 均匀吹打离心沉淀物（具体加入剂量如下表），待其溶解后，将重悬液转移至新的 1.5mL 离心管中；

样品体积	加入 PBS 剂量
40ml	1ml

注：其他剂量请根据上表等比例换算

- 5)收获外泌体颗粒：将含有重悬液的 1.5mL 离心管于 4℃以 12000g 离心 5 min，保留上清液，该上清液中富含外泌体颗粒。（注：若沉淀较多，可重复该步骤多次至无明显沉淀，每次取离心上清液。外泌体溶液可能带有淡淡的乳白色，此为正常现象）。
- 6)外泌体的保存：纯化后的外泌体以 50-100μL 进行分装保存于-80℃低温冰箱中，以备后继实验使用。

4. 注意：

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！