

细胞上清外泌体提取试剂盒

货号: EX0011

规格: 20T

保存: 常温 (18-25°C) 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
Exosome Concentration Solution*	100mL
Exosome Purification Filter*	20 tubes

注: *RNase/DNase Free, Sterile。

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 (30-150nm), 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。本试剂盒经过优化处理, 适用于细胞培养上清液中的外泌体提取, 并搭配纯化过滤装置, 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 10000×g 离心力); 涡旋振荡器; 1.5mL 离心管; 1×PBS 缓冲液 (无菌)

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°C 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: 单次提取时的细胞上清的用量最少为 20ml。
- 3) 离心去细胞碎片: 将样品转移至离心管中, 于 4°C 以 3000×g 离心 10 min, 去除样品中的细胞碎片; (注: 若沉淀较多, 可 3000×g/10min 离心多次至无明显沉淀, 每次取离心上清液)。
- 4) 上清液转移: 上清液转移: 去除细胞碎片的离心上清液转移到新的 50mL 离心管中。

2. 提取外泌体

- 1) 上清液预处理: 在去除杂质的离心上清液中加入 Exosome Concentration Solution (ECS 试剂), 具体的加入剂量如下: (其他剂量请根据表中的试剂用量等比例换算)。

样品名称	样品剂量	加入 ECS 剂量
细胞培养上清液	20ml	5ml

- 2)溶液混合：加入 ECS 试剂后将离心管盖紧，通过涡旋振荡器混匀 1 min，再放置于 4°C 静置至少 2 h；（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°C 以 10000×g 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。（注：其他剂量请根据表中的试剂用量等比例换算）

细胞上清液体积	加入 PBS 剂量
20ml	0.2ml

- 5)收集外泌体颗粒：将含有重悬液的 1.5mL 离心管于 4°C 以 12000×g 离心 2 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 12000×g /2min 离心多次至无明显沉淀，每次取离心上清液）。

3. 纯化外泌体

- 1)纯化外泌体：将收获的外泌体颗粒粗品转入 Exosome Purification Filter (EPF 柱) 上室中，于 4°C 以 3000×g 离心 10 min，离心后收集 EPF 柱管底的液体，此液体即为纯化后的外泌体颗粒；（注：EPF 柱不可重复使用）。
- 2)外泌体的保存：纯化后的外泌体以 50-100μL 进行分装保存于 -80°C 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。