

外泌体提取纯化试剂盒 (体液)

(Cat.No: UR52141)

产品描述

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。宇玫博生物自主开发的外泌体快速提取试剂盒, 组分经过优化处理, 适用于脑脊液、羊水、乳汁、唾液、肺泡灌洗液以及鼻腔盥洗液等体液中的外泌体提取, 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

- 1、高速离心机 (可以达到 10000 *g* 离心力),
- 2、1×PBS 缓冲液 (无菌);

产品组成

组分名称	规格
Exosomoe Concentration Solution* (from other body fluids)	15 mL
Exosomoe Purification Filter*	30 Tubes

*RNase/DNase Free, Sterile

操作规程

一、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: (单次提取时的样品量)

样品名称	最低量
肺泡灌洗液	1.0 mL
腹水	1.0 mL

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;

4, 上清液转移: 去除细胞碎片的离心上清液

转移到新的离心管中；

5, 离心去杂质: 转移后的上清液于 4°C 以 10000 *g* 离心 10 min, 去除样品中杂质, 将离心后的上清液转移至新的离心管中。**(注: 若沉淀较多, 可 10000*g*/10min 离心多次至无明显沉淀, 每次取离心上清液)**

二、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 **(注: 其他剂量规格请根据表中的试剂用量等比例换算)**

样品名称	样品剂量	ECS 剂量
肺泡灌洗液	2.0 mL	0.5 mL
腹水	2.0 mL	0.5 mL

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 2 h;

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 1.5 mL 离心管中;

样品体积	加入 PBS 剂量
2 mL	0.2 mL

(注: 其他剂量请根据表中的试剂用量等比例换算)

5, 收获外泌体颗粒: 将含有重悬液的 1.5mL 离心管于 4°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)**

三、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;

2, 外泌体的保存: 纯化后的外泌体以 50-100 μ L 进行分装保存于 -80°C 低温冰箱中, 以备后续实验使用。

储存条件

本品在室温可稳定保存 24 个月, 使用前请充分混匀。