

## 外泌体提取试剂盒（乳液）

(Cat.No: UR52146)

### 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 10000 *g* 离心力)，涡旋振荡器；50mL 离心转子，50mL 离心管，2mL 离心转子，1.5mL 离心管，PBS 缓冲液。

### 产品组成

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

### 实验流程



## 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	单次最佳处理体积
乳液	50 mL

3, 离心去脂: 将样品转移至离心管中, 于 4°C 以 10000 *g* 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, 或用移液器转移, 转移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。)

### 二、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°C 至 8°C 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”。)

乳清体积	Solution A 剂量	Solution B 剂量
40 mL	4 mL	3 mL

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°C 以 10000 *g* 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 50 mL 离心过滤柱中, 于 4°C 以 3000 *g* 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
40 mL	3 mL

### 三、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 <b>Solution D</b> 剂量
40 mL	10 mL

注: 其他剂量请根据表中的试剂用量等比例换算

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°C 至 8°C 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°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
40 mL	1 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 1.5 mL 离心管于 4°C 以 12000 *g* 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 50-100  $\mu$ L 进行分装保存于 -80°C 低温冰箱中, 以备后继实验使用。

### 四、储存条件

本品在室温条件下可稳定保存 24 个月, 使用前请充分混匀。

### 五、注意

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!

### 六、其它事项

更多技术问题, 请联系宇玫博为您作进一步解答。

联系方式: 021-60521508

QQ: 3423485078