

外泌体提取纯化试剂盒（组织）

产品使用说明书 (Version 1.0)

产品名称：外泌体提取纯化试剂盒（组织）

等组织），可快速高效地获得高纯度外泌体颗粒，

英文名称：Exosome Isolation and

可用于电镜分析、NTA 粒径分析、核酸分析、蛋

Purification Kit (from Tissue)

白分析、细胞学实验和动物实验等。

货号规格：UR52161 (20 T)

自备材料：

运输存储：Solution A2 冰袋运输, 存储于-18℃

高速离心机（可达到 12000 ×g 转速），涡

以下；其他组分常温运输存储。有效期 2 年。

旋振荡器, 1.5 mL、2 mL 离心管, PBS 缓冲液。

产品描述：

产品组成：

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、尿液及乳汁等体液以及组织中大量存在。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。

组分名称	规格
Solution A2 (-18℃保存)	30 mL
Solution B2 (常温保存)	10 mL
Exosome Purification Filter	20 Tubes

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提取纯化试剂盒 (组织), 组分经过优化处理, 适用于多种组织的外泌体提取 (包括脑、心、肝、肺、肌肉、脾、淋巴结、胸腺、胚胎、肿瘤

操作规程：

一、样品预处理

- 提前将 Solution A2 置于 4℃或冰上融化并混匀;
- 组织剪碎：**在消毒器皿（置于冰上）中将组织剪切成 1 mm³ ~ 3 mm³ 左右的碎组织块（组织块剪切得越小越好）;
- 组织碎片清洗：**将组织碎块转移至 2 mL 离

Umibio Science and Technology Group

上海公司地址：上海市浦东新区青黛路 800 号 绍兴公司地址：浙江省绍兴市越城区天姥路 1 号
电 话：4006-166-973 021-60521508 Q Q：3423485078；网 址：www.umibio.cn

心管中, 加入不少于 10 倍体积的 1×PBS 缓冲液, 振荡混匀后 300×g (~2000 rpm*)

离心 10 分钟, 弃上清;

* 为约 7 cm 有效离心半径的离心机换算, 下同。

4. **组织消化:** 按照每 0.1 g 组织块加入 1 mL Solution A2 的比例, 将组织块与 Solution A2 混匀, 横放于 37°C、80 rpm 恒温摇床上孵育 20 分钟(或在 37°C 水浴锅中孵育 20 分钟, 每 5 分钟混匀一次);

5. **离心:** 反应液以 8000×g (~10000 rpm) 离心 10 min, 将上清液转移至新的 1.5 mL 离心管中。

二、外泌体提取纯化

1. **加 Solution B2 试剂:** 上一步获得的上清液中加入 1/4 体积的 Solution B2 试剂;
2. **溶液混合:** 通过涡旋振荡器混匀 1 min;
3. **静置:** 混匀后的样品于 4°C 环境中静置 20 分钟;
4. **沉淀外泌体:** 将静置后的样品于 4°C 以 8000 ×g (~10000 rpm) 离心 20 min, 弃上清, 沉淀中富含外泌体颗粒 (**注: 尽可能吸净上清液**);

5. **外泌体重悬:** 加入 1×PBS 均匀吹打离心沉淀物 (按照每 0.1 g 组织对应 200 μL PBS 的比例进行重悬), 待其溶解后, 将重悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中;

6. **收获外泌体颗粒:** 将含有重悬液的 1.5 mL 离心管于 4°C 以 11000×g (~12000 rpm) 离心 2 min, 保留上清液, 该上清液中富含外泌体颗粒 (**注: 此时可能仍有较多沉淀, 为正常现象**);

7. **外泌体纯化:** 将外泌体转移至纯化柱 (Exosome Purification Filter) 中, 于 4°C 以 3000×g (~6000 rpm) 离心 10 min, 下柱中的样品即为纯化后的外泌体 (**注: EPF 柱不可重复使用**);

8. **外泌体的保存:** 纯化后的外泌体以 50-100 μL 进行分装保存于 -80°C 低温冰箱中, 以备后继实验使用。

注意事项:

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及商业用途!

更多技术问题, 请联系宇玫博为您作进一步

解答。电话: 021-60521508, QQ: 3423485078

常见问题及解决方法：

一、产品试剂保存问题：

1. Solution A2 使用前后应保存于-18℃条件下，建议分装后使用，应避免反复冻融；
2. Solution B2 始终保存在室温条件下即可，温度过低可能使该溶液中出现白色结晶，且难以复溶（需要高温），少量沉淀不影响提取效果。

二、纯化柱使用问题：

1. 一般情况下，每个样品按照说明书操作，“3000×g（~6000 rpm）离心 10 min”即可一次性纯化完毕。如果上柱中仍有液体残留，将纯化柱转换方向放置于离心机中（区别于上一次放置方向即可），再次重复离心；
2. 若通过上述操作，上柱中仍有较多液体残留，请将上柱中的液体转移至新的纯化柱中，继续重复离心操作，直至上柱液体全部转移至下柱中。

三、外泌体得率问题：

一般情况下，0.1 g 组织样品（以心肌组织为例）可以提取出 100~200 ug 外泌体（ $5 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{10}$ Particles 总量），因不同组织外泌体含量不同，得率会有一定差异。