

外泌体提取试剂盒（尿液）产品说明书

Cat.No: UR52126

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, 适用于尿液中的外泌体提取, 可快速高效地获得外泌体颗粒。

产品组成

组分名称	规格
Exosome Concentration Solution	100mL
Exosome Solution Buffer	20 mL
50 mL 离心过滤柱	20 个

自备材料

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

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:

样品名称	最低量
尿液	25 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; (注: 若沉淀较多, 可 3000g/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: 去除细胞碎片的离心上清液转移到 50 mL 离心过滤柱中;

5, 样本过滤: 将 50 mL 离心过滤柱转至高速离心机中, 于 4°C 以 3000 g 离心 10 min, 取

过滤柱下室液体。(注: 若上室中有残留液体,

可重复本步骤以获得更多样本量)

二、提取外泌体

1, 上清液预处理: 在离心过滤后的上清液中加入 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
尿液	25 mL	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 Exosome Solution Buffer (ESB 试剂) 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;

尿液样品体积	加入 ESB 剂量
25 mL	0.5 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。

6, 外泌体的保存: 保存于 -80°C 低温冰箱中, 以备使用。若样品量较多, 建议分装后保存。

储存条件

本试剂盒在室温可稳定保存 24 个月, 使用前请充分混匀。