

外泌体提取纯化试剂盒（血清/血浆）升级版

(Cat.No:UR52151)

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)，在血清/血浆中大量存在。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。

外泌体的生物学功能研究中需要分离完整的外泌体颗粒，宇玫博生物自主开发的血清/血浆外泌体快速提取纯化试剂盒，组分经过优化处理，适用于血清/血浆中的外泌体提取，可**快速高效**地获得**高纯度**外泌体颗粒。

自备材料

高速离心机（可达到 12000 rpm 转速），涡旋振荡器；1.5 mL 离心管，PBS 缓冲液、制冰机。

产品组成

组分名称	规格
Solution A (-18℃保存)	20 mL
Solution B (常温保存)	5 mL
Exosome Purification Filter	20 Tubes

操作规程

一、样品预处理

- 1, 离心机在使用前先于 4℃预冷 10 min;
- 2, 取样：如果是冻存样品，从冰箱取出后于 2-8℃条件下进行解冻；如果是新鲜样品，收集样品后置于 2-8℃保存；
- 3, 将样品按照 500 μL /管进行分装，不足部分用 1×PBS 补足至 500 μL。

样品类型	单管处理体积
血清/血浆	0.5 mL/管

二、去除杂蛋白

- 1, **Solution A** 从试剂盒中取出后，放置到冰箱冷冻层中至少 1 小时以上，取出**预冷的** **Solution A** 置于碎冰上；
- 2, 加 **Solution A**：在 500 μL 血液样品中加入 400 μL **预冷的** **Solution A**，立即将离心管盖紧，通过涡旋振荡器充分混匀 30 s；
- 3, 离心去蛋白：将混匀后的样品于 4℃以 12000 rpm 离心 20 min, 去除样品中的杂蛋白；

4、上清液转移：去除杂蛋白的离心上清液

转移至新的 1.5mL 离心管中；

三、提取外泌体

1, 加 **Solution B**：在去除杂蛋白的离心上清液中加入 120 μ L 的 **Solution B**；

2, 溶液混合：加入 **Solution B** 试剂后将离心管盖紧，通过涡旋振荡器充分混匀 2 min；再放置于室温下静置 5 min；

3, 沉淀外泌体：将装有混合液的离心管于 4℃ 以 12000 rpm 离心 15 min，弃上清；

4, 再次离心：将含有沉淀的离心管再次于 4℃ 以 12000 rpm 离心 2 min，弃上清 **(注：尽可能吸净上清液)**，并将 1.5 mL 离心管于室温下敞口静置 10 min；

5, 外泌体重悬：取 200 μ L 的 1×PBS 均匀吹打离心沉淀物，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℃ 以 12000 rpm 离心 5 min，保留上清液，该上清液中富含外泌体颗粒；

(注：此时可能有较多沉淀，为正常现象)

四、纯化外泌体

1, 外泌体纯化：将收获的外泌体颗粒粗品转入 Exosome Purification Filter (**EPF 柱**) 上室中，于 4℃ 以 5600 rpm 离心 20 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 50-100 μ L 进行分装保存于 -80℃ 低温冰箱中，以备后继实验使用。

五、储存条件

收到产品后将试剂分开储存，使用前请充分混匀。

Solution A：常温运输，打开试剂盒后储存于 -18℃ 条件下 (常规冰箱冷冻层)；

Solution B：储存于常温条件下；

EPF 柱：储存于常温条件下；

五、注意

本产品仅用于生命科学研究！

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。