

# 外泌体提取纯化试剂盒（细胞上清）产品说明书

## (Cat.No: NW3209)

### 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。由本公司自主开发的外泌体提取纯化试剂盒，组分经过优化处理，适用于细胞培养上清液中的外泌体提取，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。

### 产品组成

名称	规格
Exosome Concentration Solution	120mL
Exosome Purification Filter	20 Tubes
产品说明书	1 份

\* Nuclease-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
细胞培养上清液	20mL

3, 离心去细胞碎片: 将样品转移至离心管中于 4°C 以 3000g 离心 10min, 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, 离心去杂质碎片: 将离心上清液转移至新的离心管中, 于 4°C 以 10000 g 离心 10 min, 去除样品中的杂质碎片;

5, 上清液转移: 去除杂质碎片的上清液转移到新离心管中;

## 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: (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
细胞培养上清液	20mL	5mL

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 8 h 以上 (注: 增加静置时间可提高外泌体得率, 但不可超过 24 h);

3, 沉淀外泌体: 取出装有混合液的离心管于 4°C 以 10000g 离心 60min, 弃上清, 沉淀中富含外泌体颗粒; **(注: 尽可能吸净上清液)**

4, 再次离心: 将含有沉淀的离心管再次于 4°C 以 10000 g 离心 2 min, 弃上清 **(注: 尽可能吸尽上清液);**

5, 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 1.5mL 离心管中;

细胞上清样品体积	加入 PBS 剂量
20mL	0.2mL

**注: 其他剂量请根据表中的试剂用量等比例换算**

6, 收获外泌体颗粒: 将含有重悬液的 1.5mL 离心管于 4°C 以 12000g 离心 2min, 保留上清液, 该上清液中富含外泌体颗粒。(注: 若沉淀较多, 可 12000g/2min 离心多次至无明显沉淀, 每次取离心上清液)

7, 外泌体的保存: 纯化后的外泌体以合适体积进行分装冻存于-80°C 低温冰箱中, 以备后续实验使用。

### 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 3000g 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 (注: EPF 柱不可重复使用);

2, 外泌体的保存: 纯化后的外泌体以合适体积进行分装冻存于-80°C 低温冰箱中, 以备后续实验使用。

仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!