

植物囊泡提取纯化试剂盒（粘稠汁液植物）

产品编号	产品名称	包装规格
NW3226-2T	植物囊泡提取纯化试剂盒（粘稠汁液植物）	2T
NW3226-20T	植物囊泡提取纯化试剂盒（粘稠汁液植物）	20T

产品简介：

植物囊泡在细胞间通讯、免疫调节及跨物种调控中具有重要研究价值，但其提取面临植物组织成分复杂（如多糖、酚类干扰物）和细胞壁致密的技术瓶颈，导致得率低、纯度不足。

本试剂盒专为粘稠汁液植物设计，可高效释放植物组织中的囊泡，并去除植物组织中的非囊泡成分，获得的植物囊泡可用于电镜分析、NTA 粒径分析、核酸分析、蛋白分析、细胞学实验和动物实验等。

保存条件：

Solution A -80℃保存，有效期 1 年，使用前 4℃化冻，分装使用避免反复冻融；
其他组分常温运输保存，有效期 1 年。

产品组成：

组分名称	NW3226-2T	NW3226-20T
Solution A	250 μ L	2.5 mL
Solution B	6.5 mL	65 mL
1%柠檬酸	2.5 mL	25 mL
1M NaOH	5 mL	50 mL
1 μ m 滤膜	2T	20T
0.45 μ m 滤膜	2T	20T
Exosome Purification Filter*	2T	20T

* Nuclease-free, Sterile

自备材料：

一、实验材料/耗材

- 1、削皮刀、水果刀、玻璃砧板等（可以把待提取植物处理成方便榨汁的小块的用具）；
- 2、400 mL 烧杯 1~2 个；
- 3、50 mL 离心管、1.5mL EP 管若干；
- 4、pH 试纸，1~10（广泛），5.5~8.5（精密）。

二、实验设备

电子秤；碾磨榨汁机（推荐使用，可搜索原汁机购买）；4℃高速离心机；水浴锅；涡旋振荡器。

三、实验试剂

1×PBS 溶液（无菌）

产品使用：

一、榨汁前准备

- 1、榨汁机消毒：将榨汁机各部件拆分开，喷洒 75%酒精仔细擦拭后，放入生物安全柜紫外消毒至少 20 min；
- 2、样品准备：按照试剂盒处理量准备待提取样品；

注：试剂盒处理量

规格	植物汁液（加 PBS 稀释后）处理量
2 T	20ml
20 T	200ml

- 3、样品处理：将新鲜的待提取植物洗净外表皮后，用无尘布擦干，放入生物安全柜紫外消毒至少 20 min 后，将植物切成方便榨汁的小块；

二、榨汁

- 1、榨汁机准备：在生物安全柜下，将完成消毒的榨汁机部件按照榨汁机说明书组装；
- 2、榨汁：将切好的植物小块投入榨汁机榨汁，质地偏硬的植物注意少量多次，收集植物汁液，榨汁完成。
- 3、粘稠汁液稀释：向收集好的粘稠汁液中加 PBS，边加边搅拌混匀，直至植物汁液有良好的流动性。

注：a. 如需控制内毒素，榨汁、汁液稀释过程请在生物安全柜内进行； b. 稀释所加的 PBS 体积需要根据榨汁后汁液的粘稠程度而定，可以少量多次加，及时搅拌观察汁液状态。

三、提取囊泡

1、植物汁液预处理：在稀释好的植物汁液中加入混匀的 Solution A 试剂，添加剂量如下（其他剂量可按添加比例换算）：

样品名称	样品剂量	Solution A 剂量
加 PBS 稀释后的 植物汁液	20 mL	200 μ L
	40 mL	400 μ L

注：Solution A 试剂使用前需混匀。

2、混合孵育：加入 Solution A 试剂后盖好管盖，颠倒混匀 8~10 次，将混合液 37℃水浴 16 h 左右（过夜）；

3、调 pH：将孵育好的混合液取出，在生物安全柜下用试剂盒自带的 1M NaOH 和 1%柠檬酸将混合液 pH 调至 7.0；

4、低速离心去杂：将调 pH 后的汁液于 4℃，5,000 \times g，10 min 离心，收集上清；

5、高速离心去杂：将低速去杂后的上清 4℃，10,000 \times g，20 min 离心后再次收集上清；

6、过滤：将收集到的上清依次经 1 μ m 滤膜和 0.45 μ m 滤膜过滤；

注：如需获得 30-1000 nm 植物囊泡，可只进行 1 μ m 滤膜过滤，不进行 0.45 μ m 滤膜过滤。

7、加提取试剂：取上步离心上清液加入 Solution B 试剂，添加剂量如下（其他剂量请等比例换算）：

样品名称	样品剂量	Solution B 剂量
离心过膜后的 植物汁液	20 mL	5 mL
	40 mL	10 mL

8、二次混合孵育：加入 Solution B 后拧紧管盖，通过涡旋振荡器混匀 1 min，将混合液 4℃静置 4 h 左右；

9、沉淀植物囊泡：取孵育好的混合液，于 4℃，10,000 \times g，60 min 离心，弃上清，将含有沉淀的离心管再次于 4℃，10,000 \times g，2 min 离心后，吸尽上清；

注：沉淀中富含植物囊泡，需尽可能吸尽上清液。

10、植物囊泡重悬：取合适量的 1 \times PBS 均匀吹打离心沉淀，待其溶解后，将重悬液转移至新的 1.5 mL EP 管中（建议每 20 mL 植物汁液用 400 μ L 左右 1 \times PBS 重悬）；

11、植物囊泡收获：将含有重悬液的 1.5 mL EP 管于 4℃，12,000 \times g 离心 2 min，保留上清液，其中富含植物囊泡颗粒；

注：若沉淀较多，可 $12,000 \times g$, 2 min 离心多次至无明显沉淀，每次取上清。

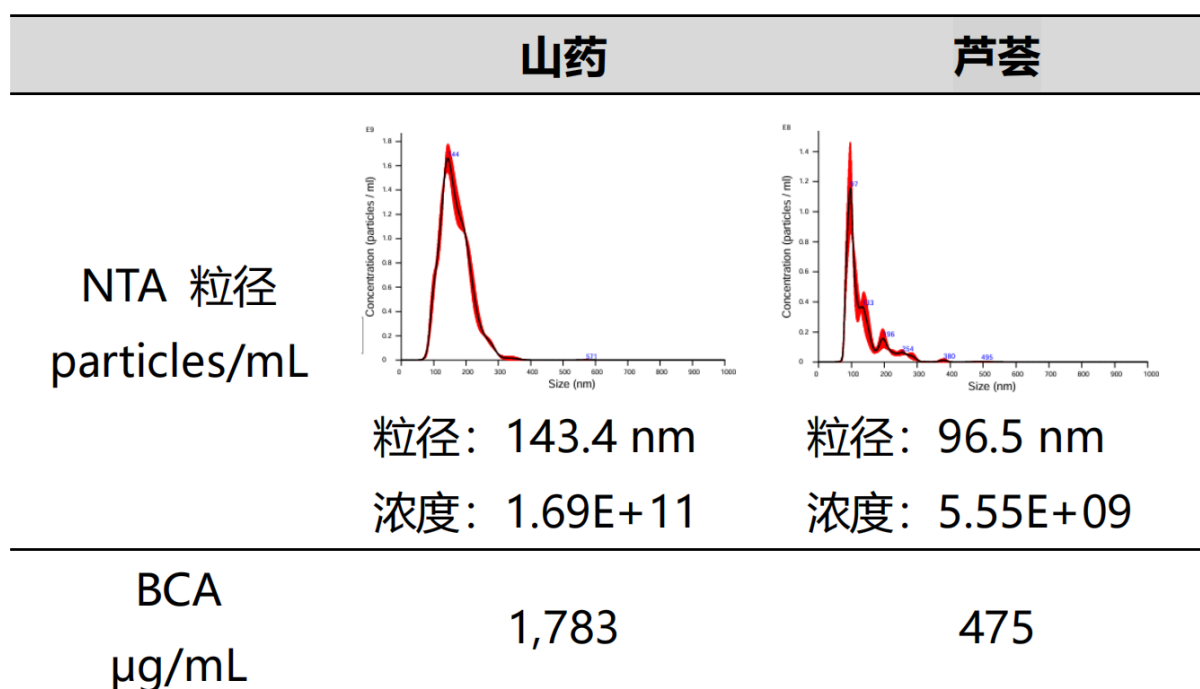
四、纯化和保存植物囊泡

1、纯化植物囊泡：将收获的植物囊泡颗粒粗品转入 Exosome Purification Filter (EPF 柱) 上室中，于 4°C , $3,000 \times g$ 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植物囊泡颗粒；

注：a. EPF 柱不可重复使用； b. 如需获得大颗粒植物囊泡，可不进行该步骤。

2、植物囊泡保存：将纯化后的植物囊泡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。

结果展示：



粒径及 BCA 结果展示

注意事项：

1. 试剂盒内的 Solution A 溶液，可以按照单次使用量分装，保存在 -80°C ，使用前 4°C 解冻，解冻后尽快用完，禁止反复冻融。
2. Solution A 试剂静置有棕黄色沉淀，属于正常现象，使用前需混匀。
3. 若对内毒素有严格要求，榨汁步骤请严格在生物安全柜下进行，关键用品和仪器注意消毒后使用。
4. 纯化后的植物囊泡可保存在 -80°C 冰箱中，避免反复冻融导致植物囊泡破裂。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！