

## 植物囊泡提取纯化试剂盒（干品植物）

产品编号	产品名称	包装规格
NW3227-2T	植物囊泡提取纯化试剂盒（干品植物）	2T
NW3227-20T	植物囊泡提取纯化试剂盒（干品植物）	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。

本试剂盒专为干品植物设计，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	NW3227-2T	NW3227-20T
Solution A	250 µL	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 µm 滤膜	2T	20T
0.45 µm 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	植物汁液处理量
2 T	20ml
20 T	200ml

- 3、样品消毒：将待提取的植物干品倒入烧杯中，一起放入生物安全柜紫外消毒至少 20 min；
- 4、样品泡发：向装有样品的容器中倒入适量 PBS，使 PBS 没过样品，等样品泡发后，捞出泡发样品，收集泡发水；

注：不同样品泡发时间差异较大，可以根据待提取样品的特性和体积决定，如干花类植物泡发所需时间较短，种子和根茎类干品泡发所需时间较长，供参考。

#### 二、榨汁/研磨

- 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；

注：若选用研钵，可直接进行下一步。

- 2、榨汁/研磨：将泡发捞出的植物小块投入榨汁机/研钵，加适量泡发水榨汁/研磨，直至植物汁渣分离，植物汁液完全从植物细胞中释放，收集汁液，榨汁完成。

注：a. 如需控制内毒素，榨汁/研磨过程请在生物安全柜内进行； b. 榨汁机在榨汁过程会持续发热，所以需要控制榨汁时间在 1min 内完成； c. 若选择研钵研磨，可以先研磨植物，再加泡发水。

#### 三、离心去杂

- 1、低速离心去杂：将榨汁后的汁液于 4℃, 5,000 ×g, 10 min 离心, 收集上清;
- 2、高速离心去杂：将低速离心后收集的上清于 4℃, 10,000 ×g, 10 min 离心, 收集上清。

#### 四、提取囊泡

- 1、上清液预处理：在去除杂质后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
离心去杂后的 植物汁液	20 mL	200 μL
	40 mL	400 μL

**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、高速离心去杂：将调 pH 后的上清 4℃, 10,000 ×g, 20 min 离心后收集上清;
- 5、过滤：将收集到的上清依次经 1 μm 滤膜和 0.45 μm 滤膜过滤;

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

- 6、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
离心去杂后的 植物汁液	20 mL	5 mL
	40 mL	10 mL

- 7、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;
  - 8、沉淀植物囊泡：取孵育好的混合液, 于 4℃, 10,000 ×g, 60 min 离心, 弃上清, 将含有沉淀的离心管再次于 4℃, 10,000 ×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。
- 9、植物囊泡重悬：取合适量的 1×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 μL 左右 1×PBS 重悬);
  - 10、植物囊泡收获：将含有重悬液的 1.5 mL EP 管于 4℃, 12,000 ×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。

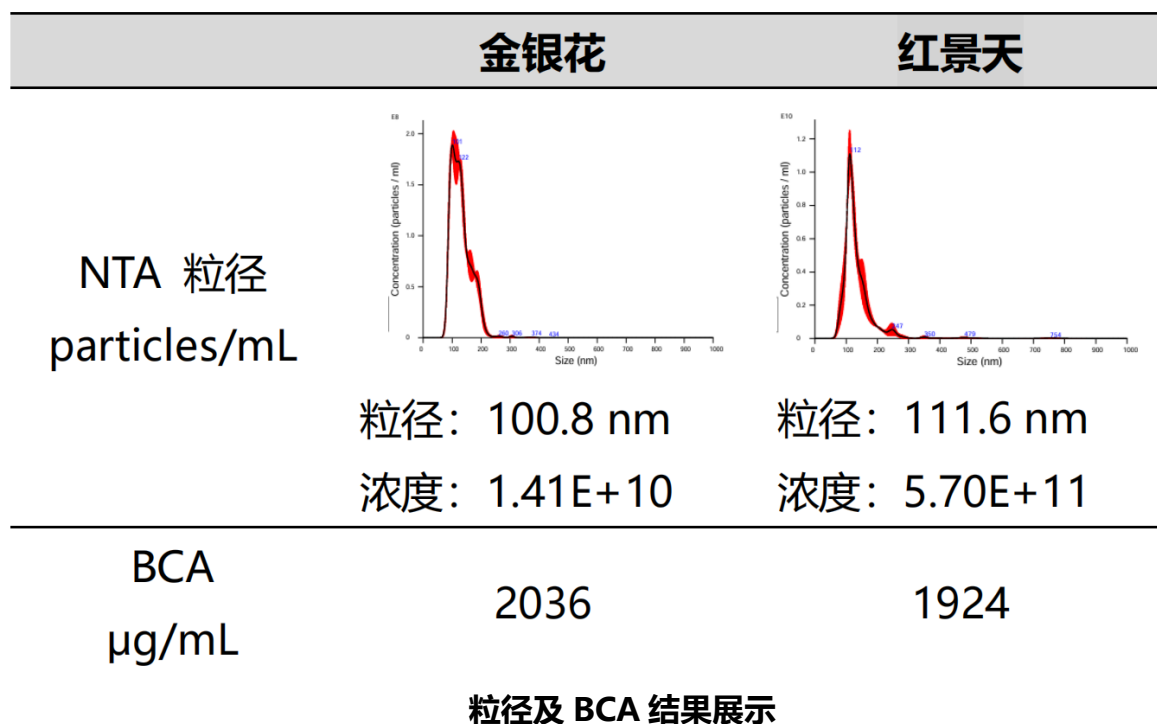
## 五、纯化和保存植物囊泡

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  $4^{\circ}\text{C}$ ,  $3,000 \times g$  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  $-80^{\circ}\text{C}$  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  $-80^{\circ}\text{C}$ ，使用前  $4^{\circ}\text{C}$  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  $-80^{\circ}\text{C}$  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！