

外泌体提取纯化试剂盒-柱法（细胞上清）

产品编号	产品名称	包装规格
NW3316-1T	外泌体提取纯化试剂盒-柱法（细胞上清）	1T
NW3316-5T	外泌体提取纯化试剂盒-柱法（细胞上清）	5T

产品简介:

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，**适用于细胞培养上清液（也可用于尿液）中的外泌体提取纯化，5T 可以提取 100ml 细胞上清液。**试剂盒采用阴离子交换色谱法原理，与被分离样品中带负电荷的外泌体相结合，从而实现外泌体的分离。该试剂盒具有快速、高效、获得的外泌体纯度高等特点，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:

室温保存，2 年有效。

产品组成:

名称	NW3209-2T	NW3209-20T
Solution A*	6 mL	30 mL
Solution B*	24 mL	120 mL
Solution C*	2.4 mL	12 mL
Exosome Extraction Column*	1T	5T
Exosome Purification Filter*	2T	10T

* Nuclease-free, Sterile

自备材料:

高速离心机, 0.45 μm 或 0.22 μm 过滤器, 100 KD 超滤柱、铁架台。

产品使用:

一、 样品预处理

1. 取样: 如果是冻存样品, 从冰箱取出后置于 4°C 解冻, 融化后置于冰上; 如果是新鲜样品, 收集样品后直接置于冰上;
2. 样品处理量 (单个柱子处理量):

样品名称	处理量
细胞培养上清液 (或尿液)	10~20 mL

注: 每个 “Exosome Extraction Column” 处理量 10~20 mL (未经浓缩的原始上清), 样品过少可能导致获得的外泌体浓度低, 样品过多可能导致堵柱。

3. 离心去细胞: 样品于 4°C 以 300 $\times g$ (~1,640 rpm**) 离心 5 min, 去除样品中的细胞; **为约 10 cm 有效离心半径的大离心机换算 (≥ 15 mL 离心管), 下同。
4. 离心去细胞碎片: 将去除细胞后的样品于 4°C 以 3,000 $\times g$ (~5,200 rpm**) 离心 10 min, 去除样品中的细胞碎片 (注: 若沉淀较多, 可 3,000 $\times g$, 10 min 离心多次至无明显沉淀, 每次取离心上清液);
5. 上清液过滤: 去除细胞碎片的离心上清液用 0.45 μm 或 0.22 μm 过滤器过滤至新的容器中。

二、 提取前准备

1. 固定外泌体提取柱 (Exosome Extraction Column): 取出提取柱, 将提取柱上下筛板取下后垂直固定于试管架或铁架台上, 待填料保存液自然流尽;
2. 加入 Solution A 溶液: 填料保存液流尽后沿柱子内壁缓慢加入 5 mL Solution A 溶液, 待 Solution A 溶液自然流尽;
3. 加入 Solution B 溶液: Solution A 流尽后沿柱子内壁缓慢加入 5 mL Solution B 溶液, 待 Solution B 溶液自然流尽, 等待上样。

三、 提取外泌体

1. 过柱: 将经 0.45 μm 或 0.22 μm 过滤器过滤后的细胞上清液沿柱子内壁缓慢多次加入提取柱中, 待细胞上清液自然流尽 (注: 每个 “Exosome Extraction Column” 上样量 10~20 mL (未经浓缩的原始上清), 样品过少可能导致获得的外泌体浓度低, 样品过多可能导致堵 柱);
2. 平衡: 细胞上清液流尽后沿柱子内壁缓慢多次加入 15 mL Solution B 溶液, 待 Solution B 溶液自然流尽;
3. 洗杂: Solution B 溶液流尽后沿柱子内壁缓慢加入 0.8 mL Solution C 溶液, 待 Solution C 溶液自然流尽;
4. 洗脱: 待上步骤中 Solution C 溶液流尽后沿柱子内壁再次缓慢加入 1 mL Solution C 溶液, 收集该流穿液 (该流穿液中富含外泌体颗粒);
5. 浓缩 (选做): 若外泌体浓度过低, 可用 100 KD 超滤柱将流穿液适当浓缩;
6. 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 3,000 $\times g$ (~6,200 rpm*) 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 (注: EPF 柱不可重复使用);
*为约 7 cm 有效离心半径的小离心机换算 (≤ 2 mL 离心管)。
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。

注意事项:

1. 新的 Exosome Extraction Column 柱子的上筛板和填料表面之间可能存在一定的空隙, 该现象是运输过程中晃动造成的, 并不影响其性能, 实验前将筛板向下推动至填料表面即可;
2. Exosome Extraction Column 和 Exosome Purification Filter 均为一次性耗材, 请勿重复利用, 否则可能会造成堵柱而损失样品;
3. Solution C 为 Tris 缓冲盐溶液;
4. 流穿液呈红色, 是由于培养基中色素和外泌体同时被洗脱所致, 不影响后续实验。若需去除色素, 可使用 100 KD 超滤柱置换缓冲液;
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!

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NW3208-120ml</u>	<u>外泌体提取试剂 (细胞上清)</u>	120ml
<u>NW3209-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (细胞上清)</u>	20T
<u>NW3210-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (尿液)</u>	20T
<u>NW3211-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (组织)</u>	20T
<u>NW3212-30T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (体液)</u>	30T
<u>NW3213-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (乳液)</u>	20T
<u>NW3214-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (多合一)</u>	20T
<u>NW3215-20T</u>	<u>外泌体 CD63 蛋白检测试剂盒</u>	20T
<u>NW3314-30T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (血清血浆)</u>	30T
<u>NW3315-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒 (血清血浆) 升级版</u>	20T
<u>NW3316-5T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒-柱法 (细胞上清)</u>	5T
<u>NW3225-20T</u>	<u>植物囊泡提取纯化试剂盒 (多汁植物)</u>	20T
<u>NW3226-20T</u>	<u>植物囊泡提取纯化试剂盒 (粘稠汁液植物)</u>	20T
<u>NW3227-20T</u>	<u>植物囊泡提取纯化试剂盒 (干品植物)</u>	20T
<u>NW3228-20T</u>	<u>大型真菌囊泡提取纯化试剂盒</u>	20T