

外泌体提取试剂盒 (乳液)

产品名称: 外泌体提取试剂盒 (乳液)

英文名称: Exosome Isolation Kit (from milk)

货号规格: NW3213

运输存储: 常温运输存储, 有效期 2 年。

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。由诺宁生物自主开发的外泌体提取试剂盒, 组分经过优化处理, 适用于乳液中的外泌体提取, 可快速高效地获得外泌体颗粒, 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。

自备材料:

高速离心机, 涡旋振荡器, 50 mL 离心管, 1.5 mL 离心管, 1×PBS 缓冲液 (无菌)。

产品组成:

组分名称	
Solution A*	50 mL
Solution B*	60 mL
Solution C*	60 mL
Solution D*	120 mL
50 mL 离心过滤柱	20 个

* 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: 单次提取时的乳液量建议不低于 25 mL;
- 3、离心去脂: 将样品转移至离心管中, 于 4°C 以 10,000 × g (~9,500 rpm**) 离心 20 min, 去除样品中的脂质及部分蛋白 (注: 离心后样品分为三层, 上层为脂质层, 下层为蛋白沉淀, 中间层为乳清。离心后上层状态为“致密、稳定、不易脱落”, 若上层“松软、易脱落”且下层沉淀较多, 可重复此步骤, 每次离心取中间层液体);

**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、乳清转移: 将去除脂质的乳清 (中间层液体) 转移至新的 50 mL 离心管中 (注: 可用枪头将上层脂质戳破后缓慢倾倒, 或用移液器转移, 转移后的乳清中带有少量脂质和沉淀是正常现象, 不影响后续实验)。

二、去除杂蛋白

- 1、乳清澄清: 乳清中加入 Solution A, 将离心管颠倒混匀至呈现“半透明状”, 再加入 Solution B, 颠倒混匀后于 2°C 至 8°C 静置 10 min; (注: 静置完成后轻轻晃动离心管, 呈现“豆花状”固体, 液体部分为“透明状”。若未呈现“豆花状”或样品仍为“乳白色”, 可再适当加入 Solution B 至液体为“透明状”);

乳清体积	Solution A 剂量	Solution B 剂量
20 mL	2 mL	2.5 mL

注: 具体加入量根据乳清体积按上表等比例换算

- 2、离心去蛋白: 将澄清后的乳清于 4°C 以 10,000 × g (~9,500 rpm**) 离心 10 min, 收集上清液;
- 3、上清液过滤: 将收集的上清液转移至 50 mL 离心过滤柱中, 于 4°C 以 5200 rpm (~3000 × g) 离心 2 min (注: 若未过滤完全, 可重复此步骤。50 mL 离心过滤柱为一次性耗材, 不建议重复使用);
- 4、将过滤后的上清液转移至新离心管中, 加入 Solution C 后颠倒混匀 (注: Solution C 加入剂量和 Solution B 剂量保持一致)。

三、提取外泌体

- 1、上清液预处理: 在加入 Solution C 后的上清液中加入 Solution D, 具体加入剂量如下 (其他剂量请根据表中

的用量等比例换算):

样品名称	样品剂量	加入 Solution D 剂量
乳清	20 mL	5 mL

- 2、溶液混合: 加入 Solution D 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 1 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 10,000 $\times g$ (~9,500 rpm**) 离心 60 min, 弃上清, 沉淀中富含外泌体颗粒(注: 尽可能吸尽上清液);
- 4、再次离心: 将含有沉淀的离心管再次于 4°C 以 10,000 $\times g$ (~9,500 rpm**) 离心 2 min, 弃上清(注: 尽可能吸尽上清液);
- 5、外泌体重悬: 取合适量的 1 \times 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(建

议每 25 mL 乳液用 200 μ L 左右 1 \times PBS 重悬);

- 6、收获外泌体颗粒: 将含有重悬液的 1.5 mL 离心管于 4°C 以 12,000 $\times g$ (~12,400 rpm*) 离心 2 min, 保留上清液, 其中富含外泌体颗粒(注: 若沉淀较多, 可 12,000 $\times g$, 2 min 离心多次至无明显沉淀, 每次取上清液, 外泌体溶液可能带有淡淡的乳白色, 此为正常现象)。*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:

本产品仅用于生命科学研究, 不得用于医学诊断及其他用途!