

Minute™ 高效外泌体沉淀试剂

目录号 EI-027

描述：

外泌体是由细胞分泌的小囊泡，它们存在于各种体液中，如血清、腹水、脊髓液、尿液和唾液。培养的细胞也会分泌大量的外泌体。外泌体的直径在 30-120 纳米。外泌体的生物功能被认为是细胞间的信使。传统分离和富集外泌体一般利用过滤和超高速离心方法，过程繁琐耗时。外泌体还可以通过沉淀法快速富集。目前，几乎所有的商业化外泌体沉淀试剂是使用聚乙二醇 (PEG)。Minute™ 高效外泌体沉淀试剂使用非 PEG 配方，用于体液和细胞培养液中总外泌体的沉淀。不像其他产品每种不同样品都需要相应的试剂盒，本试剂盒可以用相同的试剂和类似的操作步骤来完成不同样品外泌体的富集。

试剂盒组分

外泌体沉淀剂 20ml

运输及储存：

常温储存运输

重要产品信息

A

该试剂盒可用于从血清、腹水、血浆、细胞培养液、脊髓液和尿等样品中富集总外泌体。然而，针对不同样本在样品准备，预处理和离心力的具体步骤有一些变化。以下操作通用于所有样品。请按照下面表格推荐的具体操作方法和离心力来完成不同样品的提取。

B

从培养的细胞中分离外泌体，为确保分离出的外泌体是来源于您感兴趣的细胞中，需要将培养基中的胎牛血清消耗光。如果无法保证，请将细胞收集起来，用 PBS 清洗细胞至少 2 次，然后在无血清培养基中培养 5-15 小时后，通过低速离心去除细胞，培养基用于外泌体分离。

C

建议添加少量的 BSA 作为这些样品的载体，在离心沉淀外泌体前因为细胞培养上清液和脊髓液中外泌体的含量通常明显低于血清和组织提取物。

操作方法:

使用试剂前, 请将试剂摇匀 10S 使其混匀。

1. 请按照表 1 进行样品预处理。

表 1. 不同样本的实验条件

样本类型	预处理	体积	第2步孵育时间	第3步离心力
血清	不需要	>10 μ l	30 min-1h	10,000 Xg, 15 min
血浆*	用 PBS 按 1:2 进行稀释, 外泌体沉淀剂按照稀释后的体积添加	>10 μ l	30 min-1h	10,000Xg, 15 min
腹水	不需要	>50 μ l	30 min-1h	10,000Xg, 15 min
细胞培养基**	加 BSA, 见上重要产品信息 B, C	>1 ml	1h-过夜	12,000Xg, 30min-1h
尿	不需要	>1 ml	过夜	14,000Xg, 1h
脊髓液**	加 BSA, 见上重要产品信息 B, C	>1 ml	1h-过夜	12,000Xg, 30min-1h

- 注意:** * 血浆中含有大量与凝血有关的蛋白质会影响外泌体沉淀。可用蛋白酶 K 对血浆样品进行预处理, 但是这可能导致外泌体表面的部分蛋白丢失。
 100ul 血浆样本, 需加 200ul 1xPBS 稀释, 加入外泌体沉淀剂 150ul 到稀释的血浆样品中混匀, 孵育备用。
 ** 用水配置 5% 的 BSA 备用。培养基样品和脑脊液样品可以按照 1:10 的比例加入 BSA, 即 100ul BSA 加到 900ul 的样品中。BSA 的终浓度 0.5%。

唾液是一种特殊样品, 因为其很粘稠。推荐使用 Minute™ 高效唾液外泌体分离试剂盒 (目录号 SE-030)

2. 将待做样品加到离心管内, 2000xg, 离心 10min, 去除大块杂质。将上清转移到一个新的离心管中, 加入原始样品 1/2 体积的外泌体沉淀剂 (例如, 100ul 样品, 加入 50ul 沉淀试剂), 涡旋振荡混匀。4°C 孵育, 时间见表 1。
3. 孵育后, 4°C 离心, 不同样品按照表格 1 时间和离心力完成。去除上清后, 再次 10000xg 离心 30s-1min, 确保管壁液体全部清除干净。小心的将残留的液体完全去除。加入 100-200ul 1xPBS (PH7.2-7.4), 在不扰动沉淀的情况下对沉淀和管壁进行清洗, 用移液器将 PBS 吸出弃掉。沉淀即为外泌体, 可以用 1xPBS 或者其他溶液复溶, 复溶使用的体积根据沉淀的大小来判断 (例如血清样本, 复溶体积大约是起始样本体积的 1-2 倍)。在某些情况下, 沉淀的外泌体是不可见的, 或附着在离心管的侧壁上。如果看不到外泌体沉淀, 一定要用复溶溶液清洗管壁。复溶的外泌体一般用于下游实验如: 抽提 RNA, Western blot 和其他分析。

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

