

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。另外一种常用的外泌体富集方式是沉淀法，目前，几乎大部分的商业化外泌体沉淀试剂是使用聚乙二醇（PEG）。而 Minute™ 高效外泌体沉淀试剂使用更效率的非 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，常温运输

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

从培养的细胞液中分离外泌体，为确保分离出的外泌体来源于感兴趣的细胞中，需要使用去除外泌体的胎牛血清用于细胞培养。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 15 小时，培养后可通过低速离心去除细胞，培养基用于外泌体分离。

C

由于细胞培养上清和脊髓液中的外泌体浓度通常明显低于血清和组织提取物，建议在沉淀外泌体前在这些样品中加入少量牛血清白蛋白（BSA）作为载体。

操作方法：

使用试剂前，请将试剂摇匀 10S 使其混匀。

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
尿液	不需要	>1 ml	过夜	14,000Xg,1h
脊髓液**	加 BSA,见上重要产品信息 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，可能会干扰外泌体沉淀。可使用蛋白酶 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 混匀，加入外泌体沉淀剂 150ul 到混匀的血浆样品中混匀，孵育备用。

**用水配置 5%的 BSA 备用。用培养基样品和脑脊液样品按照 1：10 的比例稀释 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）

1. 样品预处理后，将待做样品加到离心管内，2,000Xg，离心 10min，去除大块杂质。
2. 将上清转移到一个新的离心管中，加入预处理后样品 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。
3. 4°C 孵育，不同样品孵育时间见表 1。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 10,000Xg 离心 30s-1min，将管壁残留的液体全部离心下来，小心地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，迅速用移液器将 PBS 吸出弃掉用于去除残留试剂和可溶性蛋白。沉淀即为外泌体，根据下游实验选择用 1X PBS 或者其他溶液复溶沉淀，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。如果外泌体沉淀不可见，一定要用复溶溶液清洗管壁。复溶的外泌体可用于下游实验如：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

