

组织分泌液外泌体提取试剂盒

EC104-01/02/03

■产品信息：

产品名称	产品编号	规格
组织分泌液外泌体提取试剂盒	EC104-01	15ml
组织分泌液外泌体提取试剂盒	EC104-02	30ml
组织分泌液外泌体提取试剂盒	EC104-03	75ml

■产品介绍：

Exosomes Isolation Regents 是用于高效、快速、方便的从血清/血浆中提取 Exosomes 的试剂盒。仅需通过简单操作和常规离心机即可从样本内中获取大量结构完整的 Exosomes。相比传统的超高速离心法，Exosomes Isolation Regent 提取效率更高，更节省时间和样本，提取的 Exosomes 可用于 WB、PCR、qPCR、NGS、细胞功能实验和 Elisa 等实验。

■试剂盒适用范围：

本试剂盒只适用于血清或血浆的外泌体提取，仅用于科学研究。

试剂组分	规格	储存条件
Isolation Reagent A	5ml/10ml/25ml	4℃
Isolation Reagent B	10ml/20ml/50ml	4℃

■保存条件：

请于 4℃ 保存，可稳定保存一年。

■流程介绍：

样品预处理→沉淀外泌体→外泌体重悬。

■样品准备：

组织液：

- 1、新鲜样品，收集样品后置于冰上，3000 g 离 20min，除去残留细胞和其他杂质；
- 2、收集上清液，10000 g 离心 10min，除去细胞碎片；
- 3、收集上清液用于提取 Exosomes 或 4℃ 保存待用。

注：如需进行下游核酸（DNA 或 RNA）相关实验，建议样品量不低于 0.5 ml 的原液。若样本为组织冲洗液，起始样本量视稀释情况而定，建议不少于 2ml。

■ Exosomes 提取：

- 1、取 500ul 上清液至新的离心管中，加入等体积 Isolation Regent A ；
- 2、颠倒混匀 3-5 次后于 4° C 静置 5min 后 10000 g ， 离心 5 min；
- 3、取上清液转移至新的离心管中，加入等体积的 Isolation Regent B ；
- 4、颠倒混匀 3-5 次后于 4° C 静置 1h，然后 13500 g 离心 45min，弃去上清液，收集沉淀，此沉淀即为外泌体；
- 5、加入 200ul 无菌 PBS 重悬沉淀物（或下游实验稀释液），静置 10min 后用移液器 轻轻重悬沉淀，进行后续实验或分装后-80℃保存（因沉淀物的粘性较大，请勿用移液器剧烈吹打，可稍微延长静置时间即可）。

注意：如对提取效率有要求，可适时延长（4）的离心时间 10-15min。

■ 常见问题：

Q1：如何鉴定提取的外泌体？

A1：外泌体是细胞分泌的细胞外囊泡群体中一种，直径一般为 30-150nm，通常确定外泌体一般需要三个验证：透射电镜（TEM）形态观察，颗粒粒径测定（NTA）和蛋白标志物检测（外泌体标志蛋白有 CD9，CD81，CD63，TSG101，Alix 等）。

Q2：将 Isolation Reagent 加入到体液样本中后，颠倒混合。请问这一步是否可以用振荡器剧烈震会对效果有影响？

A2：只需将 Isolation Reagent 与待提取样品混合均匀即可，震荡的强度不宜过分剧烈，剧烈震荡会破坏外泌体结构完整性，影响提取效果。

Q3：提取的外泌体可以用于转录组，代谢组学和蛋白组学研究吗？

A3：试剂盒提取的外泌体可以用于基于核酸的（DNA 或 RNA）的高通量测序分析，经我们验证 0.5-1ml 的组织液原液、3ml 组织冲洗液样品提取的外泌体可以满足 small RNA 测序需求。基于沉淀法开发的外泌体提取试剂盒不能够完全去掉杂蛋白，不建议用来做代谢组学和蛋白组学的研究。

Q4：提取的外泌体可以标记后，用于细胞或者动物实验荧光检测吗？

A4：试剂盒提取的外泌体可以用于细胞和动物实验。建议在进行细胞实验前对有效浓度进行探索性实验，且蛋白质数量或粒子数对外泌体进行定量时也存在误差。同时外泌体的标记方法和荧光浓度也需摸索。

Q5：组织分泌液外泌体提取过程中需要注意的事项有哪些？

A5：部分组织液（如肿瘤囊肿积液）中杂质较多，其前处理过程中应当用生理盐水或无菌 PBS 进行稀释后再进行样品前处理过程，可重复样品准备阶段的步骤 1 和 2；其他组织冲洗液，如腹腔、盆腔冲洗液等，混入血液等其他来源的分泌液，这类样本建议进行丢弃重新收集研究样本。