

细胞培养液外泌体提取试剂盒

EC102-01/02/03

■产品信息：

产品名称	产品编号	规格
细胞培养液外泌体提取试剂盒	EC102-01	10ml
细胞培养液外泌体提取试剂盒	EC102-02	50ml
细胞培养液外泌体提取试剂盒	EC102-03	100ml

■产品介绍：

Exosomes Isolation Regents 是用于高效、快速、规模化的从细胞培养上清液中提取 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，提取的 Exosomes 可用于 WB、PCR、qPCR、NGS、细胞功能实验等实验。

■试剂盒适用范围：

本试剂盒适用于细胞培养液的外泌体提取，仅用于科学研究。

试剂组分	规格	储存条件
Isolation Reagent A	10ml/50ml/100ml	4℃
Isolation Reagent B	10ml/50ml/100ml	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：

细胞培养液：

- 1、收集样品后置于冰上，2000g 离心 10min，除去残留细胞；
- 2、收集上清液，10000g 离心 10min，除去细胞碎片；
- 3、收集上清液直接用于外泌体提取，或者用 100KD 的超滤管或超滤系统浓缩 5-10 倍体积后用于外泌体提取。

注：如需进行下游核酸（DNA 或 RNA）相关实验，建议样品量不低于 30ml。

■ Exosomes 提取：

- 1、收集的上清样本，加入体积比为 V 样 : V 试剂=3 : 1 的 Isolation Reagent；

- 2、颠倒混匀后于 4° C 静置 1h, 然后 13500 g 离心 30min, 弃去上清液, 沉淀即为外泌体; (培养液外泌体含量较低, 只可看到管壁少量或者膜状沉淀)
- 3、按照每管 (50ml 离心管) 加入 1ml 生理盐水重悬溶解。(枪头轻轻冲洗管壁后, 轻吹混匀)
- 4、收集所有离心管的溶解外泌体, 混匀, 取部分样品进行质量检测, 剩余分装后置于-80℃冰箱保存

注意: 建议起始样本量不低于 30ml, 原代细胞培养液可适当增加样本体积, 对样品进行浓缩后再进行外泌体提取实验

■常见问题:

Q1: 如何鉴定提取的外泌体?

A1: 外泌体是体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: 细胞培养液提取外泌体怎样避免是培养基血清的外泌体?

A2: 目前, 主流方法是在收集细胞培养液前 24h 时进行无血清培养后再收集细胞培养液。也有使用去外泌体血清进行细胞培养。

Q3: 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?

A3: 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。

Q4: 提取的外泌体可以直接用于细胞实验吗? 可以用于代谢组学蛋白组学研究吗?

A4: 试剂盒提取的外泌体可以用于细胞实验。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。试剂盒法提取的外泌体不建议用来做蛋白组学和代谢组学研究, 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。

Q5: 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?

A5: 可以, 检测时间需要根据荧光种类来确定, 外泌体的标记方法和荧光浓度也需摸索。

Q6: 准备做外泌体 Small RNA 的 NGS 测序, 初始样品量需要准备多少?

A6: 经我们验证 30ml-40ml 的细胞培养液样品提取的外泌体可以满足 small RNA 测序需求。