

产品使用说明书

外泌体浓缩试剂盒

细胞培养上清液或尿液

Exosome Concentration Kit

For cell culture media/urine

Cat.# EXOCon40-10

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd

Version 4.0

01/12/2019

目 录

保存和应用	2
产品介绍	3
试剂盒组成和说明	3
操作方法	4
相关产品信息	6
常见问题	6
技术支持	8

保存与应用

【保存条件】

本试剂盒低温下运输，2-8℃下可保存 12 个月，使用前各试剂需充分混匀。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

本产品适用于细胞培养上清、尿液、唾液或牛奶中外泌体的浓缩，一般可浓缩 20-40 倍，接下来，可直接应用于核酸提取、ELISA、Western Blot 和荧光标记等。

产品介绍

外泌体 (Exosome) 是由不同细胞分泌的直径 30-150nm 的胞外膜性囊泡 (Extracellular Vesicles, EVs)。外泌体普遍存在于多种体液中，其内容物丰富，包括蛋白质、脂质和核酸等，在细胞间信息交流中发挥着重要作用，主要参与免疫抗原呈递，神经递质传递，脂类代谢及细胞信号转导等过程，并与多种疾病的发生、发展、治疗及预后密切相关。

密度超速离心作为传统并有效的外泌体分离方法，因其复杂的操作流程和昂贵的仪器设备，限制了外泌体的常规研究。通过多聚物沉淀细胞培养液中的外泌体，一般均需要较高转速离心才能将外泌体沉降下来，限制了大体积样本中外泌体的沉淀或富集。润基生物研制的外泌体浓缩试剂盒是利用专门设计和表面修饰的树脂来捕获（浓缩）样本中外泌体的，根据外泌体的结构特点，树脂可快速而有效地与外泌体结合，进而分离（浓缩）样本中外泌体，应用洗脱液可洗脱得到完整的具有生物学功能的外泌体，同时可去除细胞培养上清或尿液样本中小分子和离子。

此试剂盒有不同规格的浓缩柱，一次可处理 40ml 样本，可达到 20-40 倍的外泌体浓缩。此种方法操作简单，适合常规实验室的外泌体研究，有广泛的下游应用，如浓缩后可直接做：粒径分析，核酸提取，Western Blot，ELISA 和荧光标记等，也可以进一步对外泌体纯化，如“SuperEV 超纯尺寸排阻色谱柱”“外泌体纯化试剂盒”等。

试剂盒组成和说明

产品组成 Cat.# EXOCon40-10	含量	保存条件
结合缓冲液 (Binding Buffer)	40ml	2-8°C
结合树脂 (Binding Resin)	16ml	2-8°C
洗涤液 (Washing Buffer)	40ml	2-8°C
洗脱液 (Elution Buffer)	16ml	2-8°C
纯化柱 (Spin Columns)/收集管 (Collection Tubes 15ml)	10 套	RT
15ml 离心管 (Centrifuge Tubes 15ml)	10 个	RT

注：各试剂使用前请颠倒混合均匀，尤其是结合树脂彻底混匀后快速吸取。

操作方法

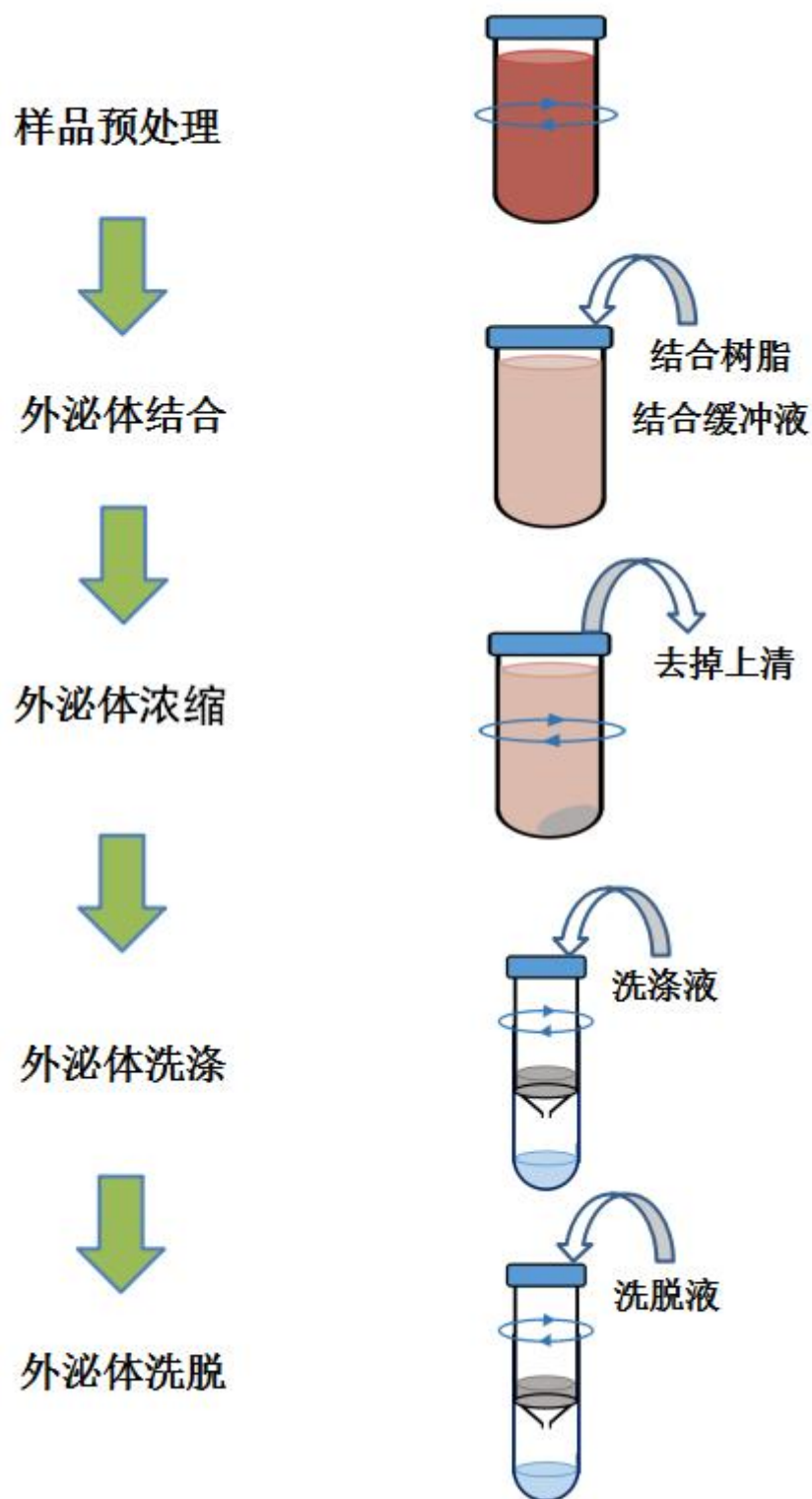


图 1 简单操作流程图

1. 样本预处理

对于冻存的**细胞培养上清或尿液**，室温或 25℃水浴解冻，将完全融化的样品置于冰上；对于新鲜的细胞培养上清或尿液，收集样品后置于冰上，3,000×g，4℃离心 10min，去除细胞或细胞碎片，离心后将样本吸入新管中备用。

对于冻存的**唾液**，室温或 25℃水浴解冻，将完全融化的样本置于冰上；对于新鲜的唾液，收集样本后置于冰上，将唾液与**去离子水**按照 **1: 4** 的比例稀释，3,000×g，4℃离心 10min，去除细胞或细胞碎片，离心后将样本吸入新管中备用。

对于冻存的**牛奶**，室温或 25℃水浴解冻，将完全融化的样本置于冰上；对于新鲜的牛奶，收集样本后置于冰上，3,000×g，4℃离心 10min，取中间液体组分与**去离子水**按照 1: 4 的比例稀释，3,000×g，4℃离心 10min，离心后将样本吸入新管中备用。

若样本 pH<7.0，需用 0.5M/L NaOH 调 pH 至 7.0~7.4。

2. 外泌体结合

吸取 40ml 上述处理的样本于 50ml 离心管中（试剂盒不提供），加入 4.0ml 的结合缓冲液，盖紧盖子，颠倒混匀。

3. 外泌体浓缩

吸取 1.6ml 结合树脂（吸取前彻底混匀结合树脂，快速吸取）加入步骤 2 的 50ml 离心管中，盖紧盖子，室温颠倒混匀 15min 后，1,500×g 室温离心 2min。轻轻将离心管从离心机中取出，用移液器取 1ml 上清液（不要弃掉），小心倒掉剩余上清液，用移液器中的液体（1ml）轻轻吹起树脂，全部转移至纯化柱中（已放入收集管），静置 2min，2,000×g 室温离心 2min，弃去滤液，将纯化柱放回收集管中。

4. 外泌体洗涤

取 2ml 洗涤液加到纯化柱中（已放入收集管），静置 3min，3,000×g 室温离心 2min，弃去滤液，重复洗涤一次。

5. 外泌体洗脱

将纯化柱转移至低吸附蛋白的 15ml 离心管中（试剂盒提供），加入 1.6ml 洗脱液，静置 5min，300×g 室温离心 2min，将滤液重新加入纯化柱，静置 2min，最后 3000×g 离心 2min，离心管中所得液体即为浓缩后的外泌体溶液。

提取的外泌体可直接应用于下游实验，或者 2-8°C 保存一周，或者 -20°C 或 -80°C 保存大约三个月。

相关产品信息

应用	相关产品	目录号
外泌体提取	外泌体捕获和分离试剂盒（xx 磁珠捕获）（细胞上清或尿液）	EXOMCUxx-10
外泌体提取	人外泌体捕获和分离酶标板（CD9/CD63/CD81/EpCAM）	EXOIEA-xxx
外泌体 DNA 分离	外泌体 DNA 分离试剂盒	EXODNA50C-1/ EXODNA30C-1
	外泌体提取和 DNA 分离试剂盒（血清/血浆）	EXODNA50A-1/ EXODNA30A-1
	外泌体提取和 DNA 分离试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXODNA20B-1/ EXODNA10B-1
外泌体 RNA 分离	外泌体提取和 RNA 分离试剂盒（血清或血浆）	EXORNA50A-1/ EXORNA30A-1
	外泌体提取和 RNA 分离试剂盒（细胞培养上清或尿液）	EXORNA20B-1/ EXORNA10B-1
	外泌体 RNA 分离试剂盒	EXORNA30C-1/ EXORNA50C-1

常见问题

Q1: 提取的外泌体如何保存?

A1: 短时间内使用, 可在 4°C 保存一周, 长时间保存, 需要-20°C 或-80°C 保存, 避免反复冻融, 另外, 保存管最好是低吸附蛋白的。

Q2: 细胞培养时, 如何去除培养基中牛血清来源的外泌体?

A2: 多数情况下, 体外细胞培养时培养基中需要添加牛来源血清, 但血清中含有大量牛源外泌体, 会污染细胞分泌的外泌体, 可以采取以下两种方法:

(1) 当细胞长到近乎单层, 换成无血清培养基, 在 24-48 小时后收集细胞培养上清。

(2) 将血清以 100,000g 超速离心 10h 以上去除血清外泌体, 或者购买商业化的去除外泌体的血清。

Q3: 如何鉴定提取的外泌体?

A3: 外泌体是体细胞分泌的囊泡群体中一种, 直径一般 30-150nm, 通常确定外泌体一般至少需要三个条件: 电镜形态观察; 颗粒粒径测定和蛋白标志物检测 (Western Blot 检测 CD9, CD63, CD81, Alix 等)。

Q4: 若提取的外泌体浓度过高, 该如何稀释?

A4: 可用 1×PBS (pH=7.2-7.4) 进行稀释处理。

Q5: 应用“外泌体浓缩试剂盒”浓缩细胞培养上清中外泌体后, 得到的外泌体很纯吗?

A5: 外泌体浓缩试剂盒只是用于将较大体积的细胞培养上清或尿液中外泌体浓缩为小体积, 便于下游应用。在浓缩过程中, 细胞培养上清中的小分子和离子可以去除, 但是一些蛋白质不能去除, 所以, 浓缩后想要得到较纯的外泌体, 需要做外泌体纯化处理, 如 SEC 纯化柱或润基生物的“外泌体纯化试剂盒”来实现。

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：<http://www.rengenbio.com>

同时可通过电话或 Email 接触技术支持。

公司：辽宁润基生物科技有限公司

地址：辽宁省沈阳市经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼

邮编：110027

电话：024-31086590

传真：024-31086589

邮箱：公司信息 info@rengenbio.com

技术支持 support@rengenbio.com

产品订购 order@rengenbio.com

