

## 外泌体提取试剂盒（通用型）

产品货号：BA2975

产品规格：10ml/20ml

### 产品简介：

外泌体提取试剂盒（通用型）可用于尿液、唾液、血液、细胞培养液等液体中外泌体的提取，操作简单，耗时短，灵敏度高。原理是利用与外泌体具有高度亲和力的试剂，通过离心沉降，将外泌体分离出来。

### 产品组成：

产品名称	规格	保存
外泌体提取试剂盒（通用型）	10ml/20ml	2-8°C

### 试剂盒以外自备仪器和试剂：

低速离心机、无菌离心管、PBS。

### 注意事项：

1. 可根据样本实际用量，按比例调整试剂用量。所需样本至少为1ml，更少的样本体积虽也可以提出外泌体，但是产量可能较低，不能满足后续实验需求，本试剂盒提取的外泌体可以满足至少3次Western blot所需的用量。
2. 对于血液组成成分比较复杂的样本，外泌体的提取需要根据实际情况进行调整。
3. 所有样本均置于-80°C条件下保存，冷藏运输，建议利用新鲜样本进行提取。
4. 提取外泌体的得率：
  - (1) 处于不同发育阶段以及不同生长条件的样本中所含有的外泌体的量不同，在某些实验条件下或某些病变部位获得的样本中外泌体的量可能与常规相应样本有显著差异。
  - (2) 储存条件以及储存时间影响外泌体得率，一般来说从新鲜的样本中总是能够得到预期的外泌体产量，未保存在-80°C或-20°C冰箱中的非新鲜样本不可靠。保存在-80°C冰箱中的样本，如果储存时间过长，外泌体产量也会显著降低。因此，实验中样本需要量应以抽提结果为准。

### 操作步骤：

1. 将样本4°C，3000×g，离心10min，取1ml上清，置于无菌离心管中。
2. 加入本试剂盒提供的外泌体分离试剂250μl，轻柔混匀。
3. 将上述混匀液于4°C条件下静置2h；4°C，12000×g，离心20min。
4. 弃上清，所得外泌体沉淀用100μl 1×PBS重悬。

**注意：**外泌体如需保存，在-70°C可以保存一个月，建议提取完成立即进行下游实验。

### 常见问题：

1. 一次实验需要多少体积细胞培养液？

细胞培养液上清中外泌体的量受细胞类型、状态、数目的影响各不相同，根据实验需求决定样本量。
2. 用固定角度的离心机离心时，为什么要标记管子的摆放方向？

一般样本中外泌体含量较少，离心后可能肉眼观察不到沉淀，标记方向后，在重悬时将1×PBS朝离心管靠外侧的内壁反复吹打洗脱即可。
3. 本品提取的外泌体可应用于哪些下游实验？如何应用于下游实验？

本品提取的外泌体可用于蛋白与RNA的提取。离心后的沉淀可用100μl的1×PBS重悬后使用，也可使用下一步实验的试剂直接处理沉淀。例如，可直接使用裂解液吹打重悬沉淀后进入蛋白或RNA提取流程。
4. 血清/血浆外泌体沉淀如何重悬？

血清/血浆提取的外泌体沉淀可使用适量1×PBS或其他下游实验所需试剂进行重悬。沉淀重悬有时会较为困难，可适量提高重悬试剂的使用量，若后续实验对外泌体的完整性无要求，可使用低速匀浆器进行重悬。
5. 测序实验建议的一次样品初始用量？



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

根据已有的测序经验，建议如下：

血浆血清需要2ml起始，得到的RNA大约在20-50ng；

细胞上清在20ml或以上，得到 RNA 大约在50ng以上；

其他类型的体液与体液的性质有关，建议都以20ml以上起始，得到RNA尽量在20ng以上。

#### 样本制备原则：

##### 1. 代表性原则

取样的代表性关系到实验结果是否具有科学意义，应根据实验目的慎重选择取样方案。应做到实验组与对照组的样本在取材时间、部位、处理条件等方面尽可能保持一致，保证实验结果的可信度。

##### 2. 准确性原则

准确记录代表性样本的各种特征数据，按要求（低温、迅速）采集、制备、贮存、运输，最终正确地按实验设计进行实验和数据处理。

##### 3. 迅速性原则

样本质量影响实验结果的最关键因素，在采集、制备、贮存、运输过程中应尽可能地做到迅速，最大限度的缩短从样本采集到实验的时间。

##### 4. 低温原则

所取样本离体后，应尽快置于干冰或-80°C冰箱中，并保证在实验前始终处于-70°C以下，以避免外泌体降解。

#### 常用样本制备指南：

##### 1. 细胞上清

(1) 细胞培养诱导结束后，去除培养液。

(2) 加入适量的PBS缓冲液冲洗两次，彻底去除残留血清。

(3) 按每10cm皿（约 $10^7$ 个细胞）10ml培养基，换成新鲜的不含血清的培养基或不含外泌体的血清培养基继续培养至少48h（细胞融合率至少80%以上）。

(4) 48h后，收集细胞上清，并于 $3000\times g$ 离心15min，去除细胞或细胞碎片。

(5) 放入-80°C冰箱中保存。

##### 2. 血液

外泌体血液样本提取时，血清和血浆可以正常提取，全血是无法完成的，必须提前做好血清或者血浆的分离。

以下是全血、血浆、血清的区别：

(1) 全血：通过采血管采集后，经过抗凝处理的全部血液。

(2) 血浆：经过抗凝处理的全血，进行低速离心后的上清液，为淡黄色液体。

(3) 血清：不经过抗凝处理的血液，让它自行凝固，在进行低速离心后的上清液，为淡黄色液体。全血经过长时间放置，或通过冷冻、或高速离心后，会发生溶血，此时无法提取外泌体。所以，一定要提前做好血清或者血浆的分离，并且采血后尽快进行分离，期间不能经过冷冻，离心时转速不能太高，以800-1000rpm离心2-5min左右为宜，离心后取上清即可。

##### 3. 尿液

(1) 收集尿液时，应尽量选择受试者的“新鲜”尿液，并注意避免细菌污染，收集前注意对饮食的控制。

(2) 并于 $3000\times g$ 离心15min，去除细胞或细胞碎片。

(3) -80°C冰箱中保存。

**效期：**12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com