Hieff® Quick exosome isolation kit Plus (for Cell Culture Media)

细胞培养上清外泌体快速抽提试剂盒 Plus

产品简介

Exosome（外泌体）是由活细胞分泌的直径约为 30-150 nm 的小囊泡，具有典型的脂质双分子层结构；存在于细胞培养上清液、血清、血浆、唾液、尿液、羊水以及其它生物体液中；Exosome 携带有多种蛋白质、脂类、DNA 和 RNA 等重要信息，不仅在细胞与细胞间的物质和信息传递中起重要作用，更有望成为多种疾病的早期诊断标志物。

本试剂盒采用独特的分离技术，可以快速从细胞培养上清中获得大量完整的外泌体颗粒，适用于下游的细胞共培养、电镜分析、Western Blot、荧光定量（qPCR）和高通量测序等应用。

产品信息

货号	41205ES10 / 41205ES20
规格	10 T/20 T

组分信息

组分编号	组分名称	41205ES10	41205ES20
41205-A	Exosome isolation solution (Cell Culture Media)	25 mL	50 mL
41205-B	Exosome Purification Column	10 个	20 个

储存条件

室温运输，本试剂盒可于室温稳定保存 24 个月。

使用说明

1.样品制备：

收集细胞培养基至 15 mL 离心管中，3000×g，离心 10 min；小心收集上清，并转移至新的离心管中（勿破坏沉淀），于冰上放置待用。

【注】若收集的细胞上清不能及时使用，可先放置于-20°C或-80°C冷冻。使用时，于 25°C水浴锅中解冻，完全溶解后置于冰上待用

2.外泌体分离：

1）试剂准备：使用前请将外泌体抽提试剂充分混匀。

2）上清预处理：吸取 10 mL 细胞培养上清，加入 2.5 mL 外泌体抽提试剂（41205-A），涡旋振荡混匀 1 min，再放置于 2°C 至 8°C静置 8 h 以上（注：增加静置时间可提高外泌体得率，但不可超过 24 h）；

细胞培养上清	外泌体抽提试剂	用途
10 mL	2.5 mL	电镜、NTA 粒径、Western Blot
40 mL	10 mL	多基因核酸分析（qPCR）、测序

【注】上述用量的推荐，仅针对外泌体分泌量高的肿瘤细胞，对于外泌体分泌量少的样品（例如干细胞）可以适当加大上清的用量。其它规格的细胞上清可以根据外泌体抽提试剂的用量进行等比例换算。

3）外泌体沉淀：取出装有混合液的离心管于 4°C，10,000×g 离心 60 min，弃上清，收集沉淀（尽可能吸尽上清）。

4）再次沉淀：将含有沉淀的离心管再次于 4°C，10,000×g 离心 2 min，弃上清，收集沉淀（尽可能吸尽上清液）。

5）外泌体重悬：取 100 µL 1×PBS 均匀吹打离心沉淀物，使其充分混匀，并转移至新的 1.5 mL 离心管中；

【注】外泌体颗粒会附着在管壁上，重悬时可以使用 PBS 对管壁进行反复吹打洗脱（避免剧烈吹打）。重悬用的 PBS 的量可以根据细胞上清的量进行等比例增加，也可以根据可能获得的外泌体的量进行适当的增加或者减少。

6）外泌体的洗涤：将含有外泌体的 1.5mL 离心管于 4°C，12,000×g 离心 2 min，弃沉淀，保留上清液。

7）外泌体的保存：纯化后的外泌体可于 4°C保存 3 天，-80°C 长期保存，避免反复冻融。

外泌体纯化：

1）纯化外泌体：将收获的外泌体颗粒粗制品转入 Exosome Purification Column（EP 柱）上管中，于 4°C，3000g 离心 10 min，收集管底的液体，即为纯化后的外泌体颗粒。

2）外泌体的保存：纯化后的外泌体可于 4°C保存 3 天，分装后于-80°C 长期保存，避免反复冻融

外泌体除菌（可选）：

获得的外泌体后期需要与细胞共培养，可以使用 0.22 µm 的滤器进行过滤除菌。初次尝试时，建议外泌体蛋白浓度在 10-100 µg/mL 内做梯度摸索，选择一个较为合适的条件。

注意事项

1．为了确保获得的外泌体是来自于您的细胞，最好使用无外泌体的血清进行培养。

2．如果想要进一步纯化外泌体，可以使用相应抗体包被的磁珠进行亲和纯化。

3．产品只针对细胞培养上清来源的外泌体分离，不适用血清/血浆中外泌体的抽提，如果需要进行血清/血浆的外泌体分离，请选用血清/血浆外泌体快速抽提试剂盒。

4．为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

5．本产品仅作科研用途！