

Hieff[®] Quick exosome isolation kit Plus (for Milk)

乳液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，可以快速从乳液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	41209ES04 / 41209ES20
规格	4 T/20 T

组分信息

组分编号	组分名称	41209ES04	41209ES20
41209-A	Buffer-A	10 mL	50 mL
41209-B	Buffer-B	10 mL	50 mL
41209-C	Buffer-C	10 mL	50 mL
41209-D	Buffer-D	20 mL	100 mL
41209-E	50 mL 过滤柱	4 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：

- 1) 收集新鲜的样品，置于冰上待用；若为冻存的样品，可于冰箱取出后放于 25°C 水浴中解冻，待完全融化后置于冰上待用。
- 2) 取 20 mL（最佳提取样本量为 50 mL）乳液样品转移至离心管中，4°C，10,000×g 离心 20 min，转移分层样品中的中层乳清至新的离心管中。（离心后样品分为三层，上层为脂质层，中层为乳清层，下层为蛋白层。脂质层应致密、稳定，若脂质层松软，不稳定，且蛋白层沉淀较多，可重复此步骤。）。

3) 向乳清中加入 Buffer-A, 颠倒混匀离心管至呈现半透明状, 再加入 Buffer-B, 颠倒混匀后 2°C 至 8°C 静置 10 min。 (静置结束后摇晃离心管, 样品应呈现白色固体和透明液体混合物, 若样品仍为乳白色或是未呈现混合状, 可以适当加入 Buffer-B 至液体透明)。

乳清体积	Buffer-A	Buffer-B
20 mL	2 mL	1.5 mL
40 mL	4 mL	3 mL

【注】：试剂用量可根据此表进行等比例换算。

4) 将样品于 4°C, 10,000×g 离心 10 min, 收集上清液转移至 50 mL 过滤柱中, 4°C, 3000×g 离心 2 min。

5) 收集过滤后的上清液至新的离心管中, 加入和 Buffer-B 等量的 Buffer-C 颠倒混匀。

2.外泌体分离:

1) 向预处理后的样品中, 按照下表加入 Buffer-D。

预处理样品量	Buffer-D
20 mL	5 mL
40 mL	10 mL

【注】：试剂用量可根据此表进行等比例换算。

2) 盖紧离心管盖, 涡旋振荡 1 min, 再放置于 2°C 至 8°C 静置 1 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)。

3) 取出装有混合液的离心管, 4°C, 10,000×g 离心 60 min, 弃上清 (尽可能吸净上清液), 收集富含外泌体的沉淀。

4) 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) 吸取一定量体积的 1×PBS 溶液均匀吹打离心沉淀物, 待其充分悬浮于 PBS 后, 将悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中。

【注】加入 1×PBS 的量, 建议根据预处理样本的体积决定, 预处理样本体积: Exosome Buffer 体积=125:1。

6) 将含有重悬液的 1.5 mL 离心管于 4°C, 12,000×g 离心 2 min, 弃沉淀, 保留上清液, 该上清液即富含外泌体颗粒的溶液。

【注】此时如果依然可以看到明显的沉淀, 建议重复步骤 6, 多次离心至无明显沉淀。

7) 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. 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。
2. 产品只针对乳液样本, 不适用其它血清/血液或者是细胞培养上清中外泌体的抽提; 如果需要进行细胞上清外泌体分离, 请选用细胞培养上清外泌体快速抽提试剂盒。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
4. 本产品仅作科研用途!