

产品使用说明书

外泌体提取试剂盒

细胞培养上清或尿液

Exosome Extraction Kit

For cell culture media/urine

Cat# **EXORG24B-1**
 EXORG10B-1

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd

Version 1.0

01/6/2018

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	7
技术支持	8

保存与应用

【保存条件】

本试剂盒室温下运输，室温或 2-8℃ 下保存 12 个月（按照试剂盒不同成分分别保存），使用前请充分混匀。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

本试剂盒提取的外泌体可用于 NTA 粒径分析，Western Blot，核酸提取及其后续分析（Q-PCR，测序等），不建议用于外泌体标记和蛋白质质谱分析等。

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、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，但其复杂的操作流程，昂贵的仪器设备，限制了外泌体的常规研究。本公司研制一种外泌体提取试剂，通过优化多聚物混合物与样品混合，经离心可将外泌体沉淀富集，其操作简单，用时短，结果稳定，污染蛋白含量较少，只需普通离心机就可以分离得到较纯的完整外泌体。

试剂盒组成和说明

本试剂盒只适用于**细胞培养上清**或**尿液**的外泌体提取。

成分 Cat# EXORG24B-1	体积	数量	保存条件
外泌体提取试剂 (Exosome Extraction Reagent)	30ml	24 次	2-8°C
纯化柱 (Filter Spin Columns) /1.5ml 收集管 (Collection Tubes 1.5ml)	--	24 套	RT
成分 Cat# EXORG10B-1	体积	数量	保存条件
外泌体提取试剂 (Exosome Extraction Reagent)	13ml	10 次	2-8°C
纯化柱 (Filter Spin Columns) /1.5ml 收集管 (Collection Tubes 1.5ml)	--	10 套	RT

本试剂盒每个反应是基于至少 **5.0ml** 细胞培养上清或尿液作为外泌体提取样品，如果提取的外泌体用于提取核酸 (RNA/DNA) 和蛋白质，建议起始样品用量为 **10.0ml**，具体见下表。

样品类型	样品体积	外泌体提取试剂用量
细胞培养上清液	5ml/10ml	1.25ml/2.5ml
尿液	5ml/10ml	1.25ml/2.5ml

操作方法

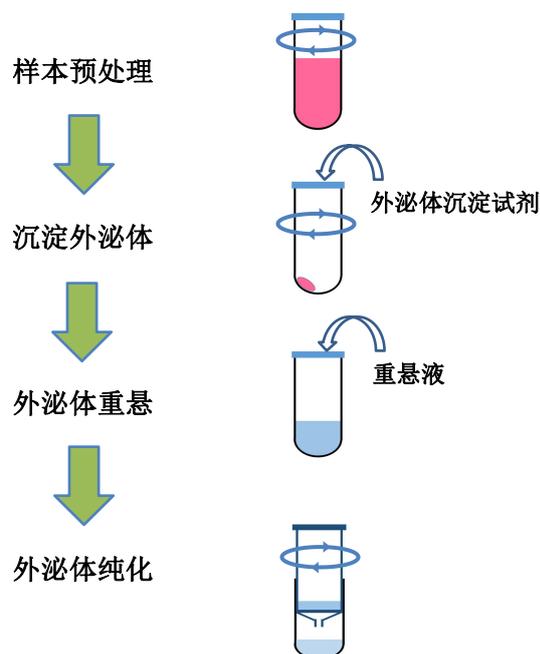


图 1 简单操作流程图

1. 样本预处理

对于冻存样品，室温或 25℃ 水浴解冻，将完全融化的样品置于冰上；对于新鲜样品，收集样品后置于冰上，3,000×g，4℃ 离心 15min，去除细胞或细胞碎片，离心后将上清吸入新管中。

2. 沉淀外泌体

取至少 5.0ml 处理后的细胞培养上清或尿液放入 15ml 离心管中，加入 1.25ml 外泌体沉淀试剂，颠倒充分混匀后 4℃ 静置至少 30min。静置后的样品 12,000×g，4℃ 离心 30min，管底可见白色沉淀，吸去上清，注意不要破坏外泌体沉淀。

3. 外泌体重悬

加入 100ul 1×PBS，或下游应用的相应缓冲液，用移液器反复吹打或漩涡混合均匀，彻底溶解沉淀，此重悬液中含有完整的外泌体。

4. 外泌体纯化

将重悬的外泌体转移至纯化柱，放入 1.5ml 收集管中(试剂盒提供)，2,000×g，4℃ 离心 5min，弃掉纯化柱，收集管中为提取的外泌体。提取的外泌体可直接应

用于下游实验（如，粒径分析、核酸提取等），或者储存在 2-8℃ 保存一周，或者 -80℃ 保存大约三个月。

相关产品信息

应用	相关产品	目录号
其它外泌体提取和纯化试剂盒		
外泌体提取	外泌体提取试剂盒(血清/血浆)	EXORG50A-1/ EXORG30A-1
外泌体提取	外泌体提取和纯化试剂盒(血清/血浆)	EXORG20A-2/ EXORG10A-2
外泌体核酸提取纯化试剂盒		
外泌体 DNA 分离	外泌体 DNA 分离试剂盒	EXODNA50C-1/ EXODNA30C-1
外泌体 DNA 分离	外泌体提取和 DNA 分离试剂盒 (血清/血浆)	EXODNA50A-1/ EXODNA30A-1
外泌体 DNA 分离	外泌体提取和 DNA 分离试剂盒(细胞培养上清/尿液)	EXODNA24B-1/ EXODNA10B-1
外泌体 RNA 分离	外泌体 RNA 分离试剂盒	EXORNA50C-1/ EXORNA30C-1
外泌体 RNA 分离	外泌体提取和 RNA 分离试剂盒 (血清/血浆)	EXORNA50A-1/ EXORNA30A-1
外泌体 RNA 分离	外泌体提取和 RNA 分离试剂盒(细胞培养上清/尿液)	EXORNA24B-1/ EXORNA10B-1

常见问题

Q1: 细胞培养时，如何去除培养基中牛血清来源的外泌体？

A1: 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，但血清中含有大量外泌体，会污染细胞分泌的外泌体，影响外泌体后续实验，可以采取以下两种方法操作：

(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。

Q2: 提取的外泌体如何保存？

A2: 短时间内使用，可在 2-8℃ 保存一周，若长时间保存，建议放在 -80℃ 冰箱中，避免反复冻融，另外，最好是使用低吸附蛋白的保存管。

Q4: 如何鉴定提取的外泌体？

A4: 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，CD81，CD63，Alix，TSG101 等）。

Q5: 本试剂盒提取外泌体方法与超速离心方法相比有哪些优势？

A5: 主要表现在：操作简单，不需要额外仪器设备，节省时间，可小体积样本提取等。

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

