

产品使用说明书

---

## 外泌体提取和纯化试剂盒

血清或血浆

## Exosome Extraction & Purification Kit

For blood serum/plasma

**Cat.#** EXORG10SP-0.5  
EXORG30SP-0.5  
EXORG50SP-0.5

---

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd

Version 2.1

22/5/2019

## 目 录

保存和应用 .....	2
产品介绍 .....	3
试剂盒组成和说明 .....	4
操作方法 .....	4
常见问题.....	6
相关产品信息.....	7
技术支持 .....	8

## 保存与应用

### 【保存条件】

本试剂盒 2-8°C下运输，室温或 2-8°C下保存至少六个月，使用前需充分混匀。

### 【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

本试剂盒提取的外泌体除了可用于粒径分析，Western Blot，ELISA，核酸提取及其后续分析（Q-PCR，测序等）外，也可用于蛋白质质谱和外泌体标记等。

## 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。

差速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。通过多聚物沉淀外泌体,具有简单、快速、可大体积操作和成本较低优点外,其分离的外泌体含有较多污染蛋白,限制了下游部分应用。能够高纯度地提取和纯化生物样本(血清、血浆或尿液等)和细胞培养上清中外泌体,目前有效的方法是通过抗体偶联磁珠亲和捕获,但是其成本较高,且不易捕获总外泌体,也限制了外泌体的常规研究,尤其是临床样本外泌体的研究。

润基生物研发出一种具有自主知识产权的提取和纯化生物样本和细胞培养上清中外泌体的方法,即**外泌体提取和纯化试剂盒**,能够简单、快速地捕获生物样本(血清、血浆或尿液等)和细胞培养上清中外泌体,尤其是血清或血浆样本。其主要原理是依据外泌体的膜结构特点(脂质双分子层),设计和修饰特异结合外泌体的树脂,通过与外泌体脂质双分子层组成成分结合,而几乎不与样本中其它蛋白质结合来实现外泌体的提取和纯化,得到较纯的完整外泌体。这种方法简单,易于操作,适合常规外泌体实验要求,有广泛的下游应用,如粒径分析,核酸提取, Western Blot, ELISA, 蛋白质质谱和外泌体标记等。

## 试剂盒组成和说明

本试剂盒只适用于血清或血浆的外泌体提取和纯化。

本试剂盒每个反应是基于 500 $\mu$ l 血清或血浆作为起始体积，样本不足时，需要用无核酸酶水补充至 500 $\mu$ l，但样本量不要低于 200 $\mu$ l。

产品组成 Cat.# EXORG10SP-0.5	规格	保存条件
平衡缓冲液 (Equilibration Buffer)	5ml	2-8°C
结合缓冲液 (Binding Buffer)	20ml	2-8°C
洗涤缓冲液 (Washing Buffer)	5ml	2-8°C
洗脱缓冲液 (Elution Buffer)	5ml	2-8°C
纯化柱 (Spin Columns Containing Resin) /2.0ml 收集管 (Collection Tubes 2.0ml)	10 套	2-8°C
1.5ml 离心管 (Centrifuge Tubes 1.5ml)	10 个	RT
产品组成 Cat.# EXORG30SP-0.5	规格	保存条件
平衡缓冲液 (Equilibration Buffer)	15ml	2-8°C
结合缓冲液 (Binding Buffer)	60ml	2-8°C
洗涤缓冲液 (Washing Buffer)	15ml	2-8°C
洗脱缓冲液 (Elution Buffer)	10ml	2-8°C
纯化柱 (Spin Columns Containing Resin) /2.0ml 收集管 (Collection Tubes 2.0ml)	30 套	2-8°C
1.5ml 离心管 (Centrifuge Tubes 1.5ml)	30 个	RT
产品组成 Cat.# EXORG50SP-0.5	规格	保存条件
平衡缓冲液 (Equilibration Buffer)	25ml	2-8°C
结合缓冲液 (Binding Buffer)	50ml $\times$ 2	2-8°C
洗涤缓冲液 (Washing Buffer)	25ml	2-8°C
洗脱缓冲液 (Elution Buffer)	15ml	2-8°C
纯化柱 (Spin Columns Containing Resin) /2.0ml 收集管 (Collection Tubes 2.0ml)	50 套	2-8°C
1.5ml 离心管 (Centrifuge Tubes 1.5ml)	50 个	RT

\*\*\*\*试剂盒在使用前需恢复到室温。

## 操作方法

### 1. 样本预处理

对于冻存血清或血浆，室温或 25°C 水浴解冻，将完全融化的样品置于冰上；对于新鲜血清或血浆，收集样品后置于冰上，12,000 $\times$ g，离心 15min，去除细胞或细胞碎片，离心后将上清吸入新管中。

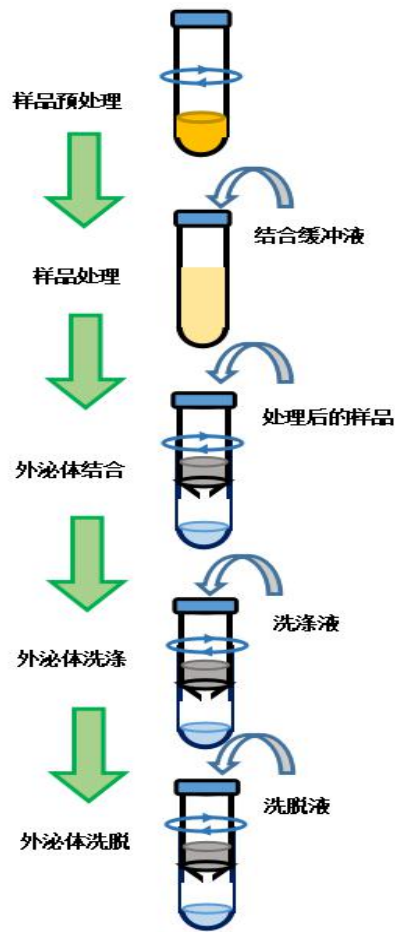


图 1 简单操作流程图

## 2. 纯化柱平衡

吸取 **500 $\mu$ l** 平衡缓冲液加入纯化柱中（已放入收集管中），**500 $\times$ g** 离心 **2min**，弃去滤液，纯化柱重新放入收集管中，待用。

## 3. 外泌体结合

吸取 **500 $\mu$ l** 处理的血清或血浆放入 **5.0ml** 离心管中（试剂盒不提供），加入结合缓冲液 **1.5ml**，颠倒混匀后静置 **2min**，然后将混合液分 **3** 次（每次大约 **700 $\mu$ l**）加入已平衡的纯化柱中（已放入收集管中），**500 $\times$ g** 离心 **2min**，每次倒掉滤液。

## 4. 外泌体洗涤

吸取 **0.5ml** 洗涤缓冲液加入纯化柱中（已放入收集管中），**500 $\times$ g** 离心 **2min**，然后再 **1,500 $\times$ g** 离心 **4min**，弃去滤液和收集管。

## 5. 外泌体洗脱

将纯化柱放入新的 **1.5ml** 离心管中（试剂盒提供），加入 **200 $\mu$ l** 洗脱液于纯化柱中，室温静置 **5min**，**500 $\times$ g** 离心 **2min**，将离心得到的溶液再加入纯化柱中，**500 $\times$ g** 离心 **2min**，弃掉纯化柱，最后离心管中液体为提取的外泌体，可直接应用于下游实验（如，外泌体鉴定、核酸提取、蛋白质质谱和外泌体标记等），或者储存在 **2-8 $^{\circ}$ C** 保存一周，**-20 $^{\circ}$ C** 或 **-80 $^{\circ}$ C** 保存大约三个月。

### 注意事项

1. 离心均在**室温**下进行。
2. 纯化柱最大容量为 **700 $\mu$ l**，转移混合液至纯化柱时要小心，不要溢出。

## 常见问题

**Q1: 外泌体提取和纯化试剂盒是特异分离样本中外泌体吗？**

**A1:** 外泌体提取和纯化试剂盒分离外泌体的原理是依据外泌体的膜结构特点，设计和修饰特异结合外泌体的树脂，通过与外泌体脂质双分子层组成成分结合，而几乎不与样本中其它蛋白质结合来实现外泌体的提取和纯化的，所以不能区分颗粒的大小，即含有其它囊泡。

**Q2: 提取的外泌体如何保存？**

**A2:** 短时间内使用，可在 **4 $^{\circ}$**  保存一周，长时间保存，需要 **-80 $^{\circ}$ C** 保存，避免反复冻融，另外，保存管最好是低吸附蛋白的。

**Q3: 用此种方法分离的外泌体，具体有哪些应用呢？**

**A3:** 由于此种方法分离的外泌体污染蛋白较少，其应用范围较广，如：

- (1) 外泌体鉴定，包括电镜形态观察，纳米颗粒追踪（NTA），Western Blot 或流式细胞分析等。
- (2) 分离外泌体蛋白质，用于质谱分析。
- (3) 分离外泌体 DNA/RNA，用于突变检测、RT-qPCR、芯片表达谱或测序（NGS）等。
- (4) 外泌体荧光标记和受体细胞的摄取实验等。

**Q4: 如何鉴定提取的外泌体？**

**A4:** 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，CD81,CD63，Alix 等）。

**Q5:** 如何定量纯化的外泌体蛋白质浓度？

**A5:** 裂解外泌体后，可应用 Bradford 或 BCA 方法测定裂解物蛋白浓度(μg/μl)。

## 相关产品信息

应用	相关产品	目录号
外泌体提取	外泌体提取试剂盒(血清/血浆)	EXORG50A-1/ EXORG30A-1
	外泌体提取试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXORG24B-1/ EXORG10B-1
	外泌体提取和纯化试剂盒（血清/血浆）	EXORG10SP-0.5/ EXORG10SP-1.0/ EXORG10SP-4.0
	外泌体浓缩试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXOCCon10-10/ EXOUCon10-10
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）	EXODNA24B-1/ EXODNA10B-1
外泌体 RNA 分离	外泌体 RNA 分离试剂盒	EXORNA50C-1/ EXORNA30C-1
	外泌体提取和 RNA 分离试剂盒（血清/血浆）	EXORNA50A-1/ EXORNA30A-1
	外泌体提取和 RNA 分离试剂盒（细胞培养上清/尿液）	EXORNA24B-1/ EXORNA10B-1
外泌体标记和纯化	DiO-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (green)	EXODiO10-1/ EXODiO20-1
	DiI-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (red)	EXODiI10-1/ EXOiI20-1
	DiR-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (red)	EXODiR10-1/ EXOiR20-1
	PKH67-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (green)	EXOPKH67-10/ EXOPKH67-20

## 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](mailto:info@rengenbio.com)

技术支持 [support@rengenbio.com](mailto:support@rengenbio.com)

产品订购 [order@rengenbio.com](mailto:order@rengenbio.com)



微信公众号



外泌体研究交流群