

外泌体提取纯化试剂盒 (组织)

产品编号	产品名称	包装规格
NW3211-2T	外泌体提取纯化试剂盒 (组织)	2T
NW3211-20T	外泌体提取纯化试剂盒 (组织)	20T

产品简介:

外泌体是由细胞分泌的包含 RNA 和蛋白质的小囊泡 (30-150 nm), 在血液、唾液、尿液及乳汁等体液中大量存在。外泌体被认为具有细胞间信使的功能, 在特定细胞之间传递它们的效应物或信号分子; 然而其构造、效应物组成以及所参与的生物学通路目前尚不明晰。

外泌体的生物学功能研究中需要分离完整的外泌体颗粒, 而传统超速离心方法步骤繁琐、硬件要求高、操作难度大。由本公司自主开发的外泌体提取纯化试剂盒, 组分经过优化处理, 适用于多种组织的外泌体提取 (包括脑、心、肝、肺、肌肉、脾、淋巴结、胸腺、胚胎、肿瘤等组织), 可快速高效地获得高纯度外泌体颗粒, 可用于电镜分析、NTA 粒径分析、核酸分析、蛋白分析、细胞学实验和动物实验等。

保存条件:

Solution A2 存储于-18°C以下; 其他组分常温保存; 有效期 2 年。

产品组成:

名称	NW3209-2T	NW3209-20T
Solution A2* (-18°C保存)	5 mL	48 mL
Solution B2* (常温保存)	1.2 mL	12 mL
Exosome Purification Filter*	2 Tubes	20 Tubes

* Nuclease-free, Sterile

自备材料：

高速离心机，涡旋振荡器，2 mL 离心管，1.5 mL 离心管，1×PBS 缓冲液（无菌）。

产品使用：

一、 样品预处理

1. 提前将 Solution A2 置于 4°C 或冰上融化并混匀；
2. 组织剪碎：在消毒器皿（置于冰上）中将组织剪切成 1 mm³ ~ 3 mm³ 左右的碎组织块（剪切得越小越好）；
3. 组织碎片清洗：将组织碎块转移至离心管中，加入不少于 10 倍体积的 1×PBS 缓冲液，振荡混匀后 300 ×g (~2,000 rpm*) 离心 10 min，弃上清；
*为约 7 cm 有效离心半径的小离心机换算（≤2 mL 离心管），下同。
4. 组织消化：按照每 0.1 g 组织块加入 1 mL Solution A2 的比例，将组织块与 Solution A2 混匀在 2 mL 离心管中，横放于 37°C、80 rpm 恒温摇床上孵育 20 min（或在 37°C 水浴锅中孵育 30 min，每 5 min 混匀一次）；
5. 离心取上清：反应液以 8,000 ×g (~10,100 rpm) 离心 10 min，将上清液转移至新的离心管中；
6. 离心去杂质碎片：将离心上清液转移至新的离心管中，于 4°C 以 12,000 ×g (~12,400 rpm) 离心 10 min，去除样品中的杂质碎片；
7. 上清液转移：去除杂质碎片的上清液转移到新离心管中。

二、 提取外泌体

1. 加 Solution B2 试剂：上一步获得的上清液中加入 1/4 体积的 Solution B2 试剂；
2. 溶液混合：将离心管盖紧，通过涡旋振荡器混匀 1 min，再放置于 4°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. 沉淀外泌体：取出装有混合液的离心管于 4°C 以 12,000 ×g (~12,400 rpm) 离心 30 min，弃上清，沉淀中富含外泌体颗粒（尽可能吸尽上清液）；
4. 再次离心：将含有沉淀的离心管再次于 4°C 以 12,000 ×g (~12,400 rpm) 离心 2 min，

弃上清（注：尽可能吸尽上清液）；

5. 外泌体重悬：取适量的 1×PBS 均匀吹打离心沉淀物，待其溶解后，将重悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中（建议每 0.1 g 组织用 200 μ L 左右 1×PBS 重悬）；
6. 收获外泌体颗粒：将含有重悬液的 1.5 mL 离心管于 4°C 以 12,000 \times g (~12,400 rpm) 离心 2 min，保留上清液，其中富含外泌体颗粒（注：若沉淀较多，可 12,000 \times g, 2 min 离心多次至无明显沉淀，每次取上清液）。

三、 纯化外泌体

1. 纯化外泌体：将收获的外泌体颗粒粗品转入 Exosome Purification Filter (EPF 柱) 上室中，于 4°C 以 3,000 \times g (~6,200 rpm) 离心 10 min，离心后收集 EPF 柱管底的液体，此液体即为纯化后的外泌体颗粒（注：EPF 柱不可重复使用）；
2. 外泌体的保存：纯化后的外泌体以合适体积进行分装冻存于 -80°C 低温冰箱中，以备后续实验使用。

注意事项：

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题及解决方法：

一、 产品试剂保存问题：

1. Solution A2 使用前后应保存于 -18°C 条件下，建议分装后使用，应避免反复冻融；
2. Solution B2 始终保存在室温条件下即可，温度过低可能使该溶液中出现白色结晶，且难以复溶（需要高温），少量沉淀不影响提取效果。

二、 纯化柱使用问题：

1. 一般情况下，每个样品按照说明书操作，“3,000 \times g (~6,200 rpm) 离心 10 min”即可一次性纯化完毕。如果上柱中仍有液体残留，将纯化柱转换方向放置于离心机中（区别于上一次放置方向即可），再次重复离心；
2. 若通过上述操作，上柱中仍有较多液体残留，请将上柱中的液体转移至新的纯化柱中，

继续重复离心操作，直至上柱液体全部转移至下柱中。

三、外泌体得率问题：

一般情况下，0.1 g 组织样品（以心肌组织为例）可以提取出 100~200 μg 外泌体（ $5\text{E}+9\sim 1\text{E}+10$ Particles 总量），因不同组织外泌体含量不同，得率会有一些差异。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NW3208-120ml</u>	<u>外泌体提取试剂（细胞上清）</u>	120ml
<u>NW3209-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（细胞上清）</u>	20T
<u>NW3210-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（尿液）</u>	20T
<u>NW3211-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（组织）</u>	20T
<u>NW3212-30T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（体液）</u>	30T
<u>NW3213-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（乳液）</u>	20T
<u>NW3214-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（多合一）</u>	20T
<u>NW3215-20T</u>	<u>外泌体 CD63 蛋白检测试剂盒</u>	20T
<u>NW3314-30T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（血清血浆）</u>	30T
<u>NW3315-20T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒（血清血浆）升级版</u>	20T
<u>NW3316-5T</u>	<u>外泌体提取纯化试剂盒-柱法（细胞上清）</u>	5T
<u>NW3225-20T</u>	<u>植物囊泡提取纯化试剂盒（多汁植物）</u>	20T
<u>NW3226-20T</u>	<u>植物囊泡提取纯化试剂盒（粘稠汁液植物）</u>	20T
<u>NW3227-20T</u>	<u>植物囊泡提取纯化试剂盒（干品植物）</u>	20T
<u>NW3228-20T</u>	<u>大型真菌囊泡提取纯化试剂盒</u>	20T