

**细胞上清外泌体(Exosome)提取试剂**

10ml 30 ml

**组织培养上清外泌体(Exosome)提取试剂**

10 ml 30 ml

**血清血浆外泌体(Exosome)提取试剂**

10 ml 30 ml

**体液外泌体(Exosome)提取试剂**

10 ml 30 ml

**储存:** 常温运输。4 °C 保存 12 个月有效**适用范围:**

- ◇ 细胞上清、组织培养上清, 人或动物体液包括血浆、血清、尿液、脑脊液、唾液、乳汁、淋巴液、羊水、腹水。
- ◇ 可用于后续电镜观察、NanoSight 纳米粒度分析, 加入细胞共培养, Western blot、ELISA、蛋白质组学分析, 小 RNA 提取和 qPCR。
- ◇ 只需少量样品、孵育和台式离心, 外泌体回收率稳定、结构完整纯度高。
- ◇ 媲美 SBI 公司 ExoQuick 和 Invitrogen 的 Total Exosome Isolation 外泌体分离试剂盒, 是国内性价比最高的外泌体提取试剂盒

**描述:** 细胞内存在许多膜性囊泡(vesicle)结构, 可以分泌排到胞外——即外泌体(exosome), 也称为 microvesicle 或 microparticle——它们均可称为 extracellular vesicle。外泌体直径约 30~150 nm, 携带多种核酸, 蛋白酶、MHC、骨架蛋白、热休克蛋白、miRNA 和脂质信号分子。外泌体分泌到细胞外基质后, 可经血液、尿液、脑脊液、唾液、乳汁、淋巴等体液运送到相邻或远隔的组织细胞并被其摄取, 因而在同类或不同类型的细胞间的物质和信息远程交换中起重要作用。外泌体调节许多细胞功能, 如免疫调控、肿瘤新生和转移, 或为疾病早期诊断标志物, 也可作为药物载体。

外泌体分离纯化的经典方法是超速离心或密度梯度离心法, 但需要超速离心机和大量样品、操作繁琐耗时, 回收率和纯度不稳定。普利莱的外泌体制备试剂盒能替代超速离心法, 适应少至 100µl 的样品, 只需孵育和台式离心, 即可制备出高纯度外泌体, 用于后续蛋白、RNA 检测试验。

**操作步骤 (适用于普利莱各种外泌体试剂盒)**

1. **样品预处理:** 取细胞培养上清、体液样品, 3000× g 离心 15 分钟去除细胞和碎片, 上清转移到新管用于提取外泌体。如需制备更高纯度的外泌

体, 可用 0.22µm 滤膜过滤离心上清一次。

2. 每 1 体积的样品, 加入 0.2 体积的外泌体纯化试剂。例如 1ml 样品加 0.2ml 外泌体纯化试剂, 5ml 样品加 1ml 外泌体纯化试剂, 充分混匀。
3. 4 °C 孵育 12 小时, 无需摇动。注意: 血清血浆富含蛋白, 孵育可缩短至 1 个小时。
4. 1500× g 离心 15 分钟收集外泌体沉淀, 弃上清。常温或 4 °C 离心不影响结果。
5. 1500× g 再次离心 5 分钟, 小心吸除残余液体, 勿触动外泌体沉淀。
6. 加 100µl PBS 重悬外泌体沉淀。若初始样品及外泌体沉淀多可多加 PBS 重悬。后续若进行 Western blot 可直接加 50-100 µl RIPA Lysis Buffer #C1053 裂解外泌体。如提取 RNA 可在 PBS 重悬外泌体后, 采用 RNAtrip LS 液体样品 RNA 提取试剂 R1020 提取外泌体 RNA。

**说明:** 通常 1 ml 细胞培养上清分离的外泌体能满足一次 Western blot 实验。外泌体常见标志蛋白 CD63, CD9, CD81, Tetraspani, HSP70, 可用普利莱的 RIPA Lysis Buffer #C1053、全套 Western blot 试剂、Super ECL Plus 超敏发光液 P1010 检测。普利莱 RNAtrip LS 液体样品 RNA 提取试剂可纯化外泌体小 RNA。

**若提取外泌体用于蛋白分析, 对于外泌体含量高的样品:** 血清、血浆、腹水、唾液、乳汁, 可采用 500µL (或 100-500µL) 的初始样品量, 再加入等体积的预冷 PBS 缓冲液稀释混匀, 然后根据稀释后的终体积, 再加入 0.2 体积的外泌体提取试剂。对于**外泌体含量较低的样品:** 组织块培养上清、细胞培养上清、尿液、脑脊液, 可采用 1 ml 样品体积, 不用 PBS 稀释, 处理后直接加入提取试剂。**若提取的外泌体用于小 RNA 和 qPCR 分析,** 建议采用较大体积的样品, 例如 5-10ml。

采用 EDTA 而非肝素抗凝血, 以免影响后续 PCR。

细胞培养基血清富含外泌体, 100,000g 超速离心过夜可去除血清外泌体; 可选择无血清培养或换无血清培养基 48 小时再提取外泌体。