

## 外泌体提取纯化试剂盒（乳液）

| 产品编号       | 产品名称           | 包装规格 |
|------------|----------------|------|
| NW3213-2T  | 外泌体提取纯化试剂盒（乳液） | 2T   |
| NW3213-20T | 外泌体提取纯化试剂盒（乳液） | 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试剂盒, 组分经过优化处理, 适用于乳液中的外泌体提取, 可快速高效地获得外泌体颗粒, 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:

室温保存, 2 年有效。

### 产品组成:

| 名称          | NW3213-2T | NW3213-20T |
|-------------|-----------|------------|
| Solution A* | 50 mL     | 5 mL       |
| Solution B* | 60 mL     | 6 mL       |
| Solution C* | 60 mL     | 6 mL       |
| Solution D* | 120 mL    | 12 mL      |
| 50 mL 离心过滤柱 | 20 个      | 2 个        |

\* Nuclease-free, Sterile

**自备材料：**

高速离心机，涡旋振荡器，50 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. 取样：如果是冻存样品，从冰箱取出后于 25°C 水浴中进行解冻，将完全融化后的样品置于冰上，如果是新鲜样品，收集样品后置于冰上；
2. 样品初始用量：单次提取时的乳液量建议不低于 25 mL；
3. 离心去脂：将样品转移至离心管中，于 4°C 以 10,000 ×g (~9,500 rpm\*\*) 离心 20 min，去除样品中的脂质及部分蛋白（注：离心后样品分为三层，上层为脂质层，下层为蛋白沉淀，中间层为乳清。离心后上层状态为“致密、稳定、不易脱落”，若上层“松软、易脱落”且下层沉淀较多，可重复此步骤，每次离心取中间层液体）；  
\*\*为约 10 cm 有效离心半径的大离心机换算（≥15 mL 离心管），下同。
4. 乳清转移：将去除脂质的乳清（中间层液体）转移至新的 50 mL 离心管中（注：可用枪头将上层脂质戳破后缓慢倾倒，或用移液器转移，转移后的乳清中带有少量脂质和沉淀是正常现象，不影响后续实验）。

**二、 去除杂蛋白**

1. 乳清澄清：乳清中加入 Solution A，将离心管颠倒混匀至呈现“半透明状”，再加入 Solution B，颠倒混匀后于 2°C 至 8°C 静置 10 min；（注：静置完成后轻轻晃动离心管，呈现“豆花状”固体，液体部分为“透明状”。若未呈现“豆花状”或样品仍为“乳白色”，可再适当加入 Solution B 至液体为“透明状”）；

| 乳清体积  | Solution A 剂量 | Solution B 剂量 |
|-------|---------------|---------------|
| 20 mL | 2 mL          | 2.5 mL        |

注：具体加入量根据乳清体积按上表等比例换算

2. 离心去蛋白：将澄清后的乳清于 4°C 以 10,000 ×g (~9,500 rpm\*\*) 离心 10 min，收集上清液；

3. 上清液过滤: 将收集的上清液转移至 50 mL 离心过滤柱中, 于 4°C 以 5200 rpm (~3000 ×g) 离心 2 min(注: 若未过滤完全, 可重复此步骤。50 mL 离心过滤柱为一次性耗材, 不建议重复使用);
4. 将过滤后的上清液转移至新离心管中, 加入 Solution C 后颠倒混匀 (注: Solution C 加入剂量和 Solution B 剂量保持一致)。

### 三、提取外泌体

1. 上清液预处理: 在加入 Solution C 后的上清液中加入 Solution D, 具体加入剂量如下(其他剂量请根据表中的用量等比例换算):

| 样品名称 | 样品剂量  | 加入 Solution D 剂量 |
|------|-------|------------------|
| 乳清   | 20 mL | 5 mL             |

2. 溶液混合: 加入 Solution D 后将离心管盖紧, 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 10,000 ×g (~9,500 rpm\*\*) 离心 60 min, 弃上清, 沉淀中富含外泌体颗粒 (注: 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 10,000 ×g (~9,500 rpm\*\*) 离心 2 min, 弃上清 (注: 尽可能吸尽上清液);
5. 外泌体重悬: 取合适量的 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 25 mL 乳液用 200 μL 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 ×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 ×g, 2 min 离心多次至无明显沉淀, 每次取上清液, 外泌体溶液可能带有淡淡的乳白色, 此为正常现象)。

\*为约 7 cm 有效离心半径的小离心机换算 (≤2 mL 离心管)。

7. 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。

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   |