

## 细胞培养基上清外泌体提取试剂使用说明书

### 【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5201	Total Exosome Isolation Reagent(from cell culture media)	50ml/100ml
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

4°C 保存，有效期一年

### 【概述】

外泌体是含有复杂 RNA 和蛋白质的小囊泡（30-120 nm），所有培养的细胞类型均可分泌外泌体，且外泌体天然存在于体液中，包括血液、唾液、尿液、脑脊液和乳汁中。外泌体被认为是细胞间的信使，在特定细胞之间传递其效应物或向大分子发出信号，然而它们的形成、组成以及涉及它们的生物学途径仍未完全了解。

外泌体功能和运输的生物学研究要求完整的外泌体的分离，但是目前使用的方法繁琐，非特异性且困难。ECOTOP 细胞培养基上清外泌体提取试剂为从细胞培养基样品中浓缩完整外泌体提供了一种简单而可靠的方法。通过束缚水分子，从细胞培养基中分离总外泌体试剂可将溶解度较低的组分（即外泌体）从溶液中挤出，从而允许它们在短暂，低速离心后收集。

ECOTOP 细胞培养基上清外泌体提取试剂可以从细胞培养基样品中快速高效地富集完整的外泌体。

- 为任何类型的下游应用最大限度地大大提高完整外泌体的回收率
- 使用简单可靠的实验方案轻松分离外泌体
- 避免耗时的超速离心
- 灵活性极佳—可以根据样品量按比例增加或减少

### 【操作方法】

#### 样品处理：

1. 收集细胞培养基。
2. 以 2000×g 离心细胞培养基 30 分钟使细胞和碎屑沉淀。

3. 将不含细胞的上清液转移至新管中，注意不要吸到管底的细胞及碎屑。

**外泌体分离：**

1. 从上一步分离的不含细胞的上清液中取所需体积至新管中，并加入 0.5 倍体积的 ECOTOP 细胞培养基上清外泌体提取试剂。如 1ml 上清液加入 0.5ml 提取试剂，或 10ml 上清液加入 5ml 提取试剂。
2. 将上清液与提取试剂吹打混匀或涡旋混匀。
3. 将混匀好的样品 2-8℃ 过夜孵育。
4. 孵育完成后，在 2-8℃ 条件下 10000×g 离心 1 小时。
5. 完成离心后，吸走并丢弃上清液，外泌体即包含在试管底部的沉淀中（大多数情况下是不可见的）。
6. 加入合适体积的 1×PBS 或其他类似缓冲液重悬沉淀。具体见下表：

开始实验时所使用的上清液体积	重悬所需缓冲液体积
1ml	25-100µl
10ml	100µl-1ml

7. 当沉淀重新悬浮之后，所得的外泌体即可进行下游分析或通过亲和层析进一步纯化。提纯后的外泌体可在 2-8℃ 中保存 1 周或在小于 -20℃ 中长期保存。

**【注意事项】**

1. 本试剂可室温保存，4℃ 保存也可。
2. 取上清注意避免吸入细胞或细胞碎片（重要！），合并相同的细胞培养液上清样品，装入无菌的玻璃瓶，可在 4℃ 短期保存（1-2 天），长期保存可冻存于 -80℃。
3. 细胞上清分离后尽快进行外泌体分离，保存在 4℃ 和 -80℃，都会对产量有一定的影响。
4. 做少量 WB 实验一般 1ml 细胞培养上清液或尿液样本基本足够，但为了足量分离外泌体做 RNA 或蛋白质分析，我们推荐使用大于 10ml 样本量来分离外泌体。
5. 分离外泌体可用于细胞功能研究或根据后续研究加入相应 Trizol 或蛋白裂解液抽提 RNA 或蛋白质或 1:100 PBS 稀释行粒径检测；
6. 本品仅限用于科研实验。