

尿液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-5203	Total Exosome Isolation Reagent(from urine)	50ml/100ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

4°C 保存，有效期 1 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。

ECOTOP 尿液外泌体提取试剂可以从尿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（标准操作建议 0.8-5ml 尿液）：

1. 将尿液样本从储存库中取出并放在冰上。如果样品被冷冻，请在 25 °C 至 37 °C 下解冻样品
2. 水浴直到完全液态，然后放在冰上直至使用。
3. 4°C 条件下将尿样以 2000×g 离心 30 分钟以去除细胞和碎片。
4. 将含有澄清尿液的上清液转移到新的离心管，注意不要吸到管底的沉淀。

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 1 倍体积的

ECOTOP 尿液外泌体提取试剂。如 1ml 上清尿液加入 1ml 尿液外泌体提取试剂。

2. 通过倒置离心管、涡旋或上下移液直到溶液均匀，充分混合尿液/试剂混合物。。
3. 将混匀好的样品室温孵育 1 小时。
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）。

注：重要！如果在离心过程中使用固定角转子，则外泌体会沿着转子中试管的外表面内侧分布。

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尿液体积	重悬所需缓冲液体积
1ml	20-50μl
5ml	100-300μl

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. 尿液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。
2. 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；
3. 本品仅限用于科研实验。