

外泌体是由活细胞分泌的直径为 30-150nm 的小囊泡，具有典型的脂质双分子层结构，存在于细胞培养上清、血清、血浆、唾液、尿液、羊水以及其他生物体液中；所有的真核细胞类型，包括造血细胞、上皮细胞、神经细胞、干细胞、脂肪细胞和癌症细胞均可在培养条件下分泌外泌体。外泌体膜上有脂质筏限制膜流动，携带有多种蛋白质、脂类、核酸（包括miRNA、DNA、lncRNA、mRNA）等重要信息，不仅在细胞与细胞间的物质和信息传递中起重要作用，更有望成为多种疾病的早期诊断标志物，包括肿瘤、心血管疾病和神经退行性疾病等等。除此之外，外泌体也被称为“天然的纳米粒子”用来进行基因和药物递送的载体。外泌体独特的结构以及临床应用的良好前景，使得外泌体成了人们研究的热点。

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。本产品适用于从**细胞培养上清**中提取外泌体。

本产品的原理是基于聚合物沉淀法，但增加了外泌体的纯化步骤，将其中残存的聚合物残留显著降低，大大提高了外泌体的纯度。

### 产品/组分信息

组份编号	组分名称	E101-01
E101-A	外泌体沉淀试剂	100 mL
E102-B	外泌体纯化柱	20 Tubes

### 储存方式

室温保存，产品有效期2年。

### 使用说明

#### 样品预处理

- 1、取样：如果是冻存样品，从冰箱取出后于室温解冻，将完全融化后的样品置于冰上；
- 2、预冷离心机和 1×PBS 溶液
- 3、样品初始用量：（单次提取时的样品量）

样品量	最低量
细胞培养上清液	20 mL

- 4、离心去细胞碎片：将样品转移至离心管中，于4℃以3000 g离心10 min,去除样品中的细胞碎片；
- 5、上清液转移：去除细胞碎片的离心上清液转移到新的50mL离心管中；
- 6、离心去杂质：转移后的上清液于4℃以9500 g离心10 min，去除样品中杂质，将离心后的上清液转移至新的离心管中。

注：若沉淀较多，可重复步骤6多次，每次取上清液至新的离心管直至无明显沉淀为止。

#### 外泌体的提取

- 1、上清液预处理：在去除杂质的离心上清液中加入外泌体沉淀试剂C；具体的加入剂量如下：

注：其他剂量规格请根据表中的试剂用量等比例换算

样品量	样品量	外泌体沉淀试剂量
细胞培养上清液	20 mL	5 mL

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℃ 静置至少 2h 或过夜。

3、离心：将离心管于 4℃ 以 9500 g 离心 60 min 后，小心取出离心管并用记号笔标记沉淀在管壁的位置，然后尽可能吸尽上清液，沉淀即为外泌体颗粒。

注：可将离心管倒扣在吸水纸上减少上清液的残留，外泌体颗粒会出现在管壁一侧，从管口到管底的一条狭长区域内，用笔做好标记。区域要标全，以免外泌体损失。

4、外泌体的溶解：取预冷的1xPBS均匀吹打管壁的离心沉淀物（具体加入剂量如下表），待其溶解后，将重悬液转移至新的 1.5mL 离心管中；

细胞上清样品体积	加入PBS量
20 mL	0.2 mL

5、除杂：将上述离心管再次以12000 g离心2 min，保留上清液，该上清液中含外泌体颗粒。

#### 外泌体纯化

1、纯化：将收获的外泌体上清液转入外泌体纯化柱上室中，4℃，3000 g 离心 10 min，离心后收集管底的液体，此液体中富含纯化后的外泌体颗粒；

注：外泌体纯化柱不可重复使用

2、保存：纯化后的外泌体以50-100ul进行分装，保存于 -80℃低温冰箱中，以备后继实验使用。