

## Exosome Isolation Reagent from Plasma

### 外泌体提取试剂（血浆）

产品编号	产品名称	规格
BL922A	外泌体提取试剂（血浆）	10ml

#### 产品简介：

外泌体（Exosome）是由活细胞分泌的直径约为 30-150 nm 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液、血清、血浆、唾液、尿液、羊水以及其它生物体液中。外泌体被认为是特定细胞间效应物及信号大分子传递的信使，然而，人们对外泌体的形成，组成成分及所参与的生物学过程仍不完全清楚。对外泌体功能及转运机制进行生物学研究，需要研究者首先能够分离、提取出完整的外泌体，但目前所使用的提取方法复杂繁琐，且特异性不高。

外泌体提取试剂（血浆）提供了一种从人源和小鼠血浆样品中浓缩、分离完整外泌体的简单且可靠的方法。通过试剂中的亲水性基团锁住样品中的水分子，迫使外泌体从血浆样品中分离出来，然后通过短暂低速离心来收集总外泌体。

#### 操作提示：

推荐使用蛋白酶 K 去除血浆中的蛋白，但也可能导致血浆样品中外泌体表面附着的蛋白部分降解，研究者需根据自身研究需要，选择是否使用蛋白酶 K 来处理血浆样本。

#### 使用方法（仅供参考）：

##### 一、样品准备

1. 从冰箱中取出血浆样品，若血浆样品为冰冻态，于 25 ~ 37°C 水浴解冻至完全成为液态，并置于冰上。
2. 室温，3000xg 离心 15 分钟以去除血浆样品中的细胞及碎片。
3. 取上清转移至新的洁净 EP 管中，并及时置于冰上。切记不要搅动样品中的团状沉淀物。
4. 室温，10000xg 离心 20 分钟以便于进一步去除样品中的碎片。
5. 将步骤 4 中离心后的血浆样品转移至新的洁净 EP 管中，并及时置于冰上。切记不要搅动样品中的团状沉淀物。

##### 二、外泌体提取

##### A、蛋白酶 K 处理

1. 吸取适量所收集的血浆样品，加入 0.5 倍体积的 PBS 缓冲液，涡旋充分混匀。然后，再加入相当于初始血浆样品 0.05 倍体积的蛋白酶 K (20 mg/mL)。（如：吸取的初始血浆样品为 100 $\mu$ L，则需加入 50  $\mu$ L PBS 缓冲液和 5  $\mu$ L 蛋白酶 K）。
2. 涡旋混匀步骤 1 中所得样品混合物，并于 37°C 孵育 10 分钟。
3. 向步骤 2 中制备的样品，加入 0.2 倍体积（即步骤 1 所吸取初始血浆样品与 PBS 缓冲液总体积）的外泌体提取试剂。（如：100 uL 初始血浆样品+ 50uL PBS 缓冲液，需加入 30uL 外泌体提取试剂；1 mL 初始血浆样品+ 500uL PBS 缓冲液，需加入 300 uL 外泌体提取试剂）。
4. 轻摇或涡旋混匀经蛋白酶 K 处理血浆样品/外泌体提取试剂混合物，直至成为均质溶液。4°C 孵育 30 分钟。
5. 室温 10000xg 离心 5 分钟（若样品为小鼠血浆，则需 4°C 10000xg 离心 30 分钟）。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



6. 吸弃上清液，EP 管底部的米色或白色沉淀物即含有外泌体（亦可再以 10000xg 离心 30 秒，以收集管壁残留液体作进一步优化），用移液枪小心吸弃残留液体。

#### **B、无蛋白酶 K 处理**

1. 吸取适量所收集的 plasma 样品，加入 0.5 倍体积的 PBS 缓冲液，涡旋充分混匀。
2. 向步骤 1 中制备的样品，加入 0.2 倍体积（即步骤 1 所吸取初始 plasma 样品与 PBS 缓冲液总体积）的外泌体提取试剂。（如：100 uL 初始 plasma 样品+ 50uL PBS 缓冲液，需加入 30uL 外泌体提取试剂；1 mL 初始 plasma 样品+ 500uL PBS 缓冲液，需加入 300 uL 外泌体提取试剂）。
3. 轻摇或涡旋混匀 plasma 样品/外泌体提取试剂混合物，直至成为均质溶液。室温孵育 10 分钟。
4. 室温 10000xg 离心 5 分钟。
5. 吸弃上清液，EP 管底部的米色或白色沉淀物即含有外泌体（亦可再以 10000xg 离心 30 秒，以收集管壁残留液体作进一步优化），用移液枪小心吸弃残留液体。

#### **三、外泌体重悬**

1. 用适量 PBS 缓冲液或同类缓冲液重悬沉淀物（如：100uL plasma 样品所得外泌体沉淀物，重悬体积为：25-50  $\mu$ L；1mL plasma 样品所得外泌体沉淀物，重悬体积为：100-500  $\mu$ L）。
2. 沉淀物被重悬后，所获得的总外泌体即可用于下游分析鉴定实验，或进一步纯化总外泌体。分离提取获得的总外泌体可于 4°C 保存长达 1 周，-20°C 长期保存。

#### **注意事项：**

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### **保存条件：**

4°C 保存，一年有效。

