

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 12 个月

【概述】

外泌体 (Exosomes) 是直径约 30-120nm 的脂质双分子层纳米级囊泡。传统的分离方法 (如超速离心) 耗时长、对设备要求高且回收率不稳定。

本产品采用先进的聚合物沉淀技术，通过束缚水分子降低外泌体的溶解度，仅需常规低速离心即可从培养基上清中高效富集完整的总外泌体。

高效回收：最大限度提高完整外泌体的回收率，适用于各类下游分析。

简便快捷：无需昂贵的超速离心机，显著缩短实验耗时。

灵活性强：实验体系可随样品量 (从 1mL 到 100mL) 同比例线性缩放。

【操作方法】

1. 样品前期处理 (去碎片)

- ① 收集细胞培养基 (建议使用 无外泌体血清 培养细胞，避免血清背景干扰)。
- ② 2000×g 离心 30min 以去除细胞及大体积细胞碎屑。
- ③ 小心将上清液转移至新管中。若上清液较多或较粘稠，建议增加一次 10,000×g 离心 30min 以彻底去除微囊泡。

2. 外泌体分离步骤

- ① **加样：**取所需体积的上清液，按 2:1 的比例加入本试剂 (即 0.5 倍体积)。
示例：10mL 上清液加入 5mL 提取试剂。
- ② **混匀：**充分旋涡震荡或上下颠倒吹打，确保液体混合均匀。
- ③ **孵育：**置于 2-8°C 过夜孵育 (至少 12 小时)。

④ **收集:** 孵育结束后, 于 4°C 条件下, 10,000×g 离心 1 小时。

⑤ **弃液:** 小心吸走并丢弃上清。外泌体位于管底沉淀中。

注: 沉淀通常呈透明或白色半透明状, 肉眼可能不可见, 吸样时请务必避开管底。

3. 重悬与保存

① 根据初始体积, 加入适量 PBS 或使用 EK-5200 ExoStore 外泌体保存溶液重悬沉淀。

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

② **保存:** 提取出的外泌体建议立即使用。若需保存, 4°C 可存放一周, 长期保存请置于-80°C (避免反复冻融), 或使用 EK-5200 ExoStore 外泌体保存溶液可以更长时间维持外泌体活性。

【注意事项】

- 血清干扰:** 普通胎牛血清 (FBS) 含有大量内源性外泌体。若下游实验为外泌体功能研究或 RNA 分析, 强烈建议使用专用的无外泌体血清培养细胞。
- 吸样技巧:** 离心后弃上清需极其小心。建议保留约 10-20μL 残余液以防触碰不可见的外泌体沉淀。
- 样品时效:** 建议新鲜收集培养基后立即开始提取。长时间冷藏或冷冻保存上清液会显著降低外泌体的产量和质量。
- 下游兼容:** 本品分离的外泌体可直接用于 Western Blot (WB)、纳米粒子跟踪分析 (NTA)、电镜观察 (TEM) 以及 RNA/蛋白质提取。