

血浆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-5202	Total Exosome Isolation Reagent(from plasma or serum)	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】

血浆和血清含有极其复杂且高浓度的蛋白质（如白蛋白、免疫球蛋白）。本产品专为这种高复杂性样本设计，通过优化聚合物沉淀技术，实现从极少量血浆样本（低至 100 μ L）中快速回收高纯度的外泌体，无需超速离心。

双重方案：提供蛋白酶 K 预处理方案，显著降低杂蛋白干扰，提高下游实验效果。

极速分离：孵育时间缩短至 10-30min，远快于传统超速离心提取方法。

高灵活性：兼容人及常见实验动物（小鼠、大鼠等）的血清与血浆。

【操作方法】

I: 样品准备:

1. 取出血浆样品并置于冰上。如果样品是冷冻的，将样品在 25-37°C 的温度下水浴解冻直到完全变成液体，然后放在冰上直到下面操作开始。
2. 室温下以 2000 \times g 离心血浆样品 20 分钟以去除细胞和碎片。
3. 在不干扰沉淀的情况下将部分澄清的上清液血浆转移到新离心管中。
4. 在室温条件下将新离心管以 10,000 \times g 离心 20 分钟以去除杂质。
5. 将含有澄清血浆的上清液转移到新管中，不要干扰沉淀，并将其置于冰上，直到准备好进行分离
6. 继续步骤“外泌体分离（用蛋白酶处理）”或“外泌体分离（无蛋白酶处理）”。

IIA:外泌体分离（用蛋白酶处理）:

建议使用蛋白酶 K 处理以去除大部分血浆中蛋白质，但它可能导致部分暴露在外

泌体表面的蛋白质降解（可能蛋白浓度会降低），若这与您的研究内容有冲突，可选择“分离外泌体（未经蛋白酶处理）”操作步骤。

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 1×PBS。
2. 将混合溶液彻底涡旋混匀。
3. 向样品中加入 0.05 倍体积的蛋白酶 K。例如：对于 100μl 起始体积的血浆，加入 5μl 蛋白酶 K 溶液。
4. 涡旋样品，将溶液试管置于 37°C 下孵育 10 分钟。
5. 加入 0.2 倍体积（即总体积=血浆+PBS）的血浆外泌体提取试剂至上述溶液中。

总体积=血浆+PBS	血浆外泌体提取试剂
100μl+50μl	30μl
1ml+0.5ml	300μl

6. 充分混合经蛋白酶 K 处理的血浆/血浆外泌体提取试剂混合物通过涡旋或倒置直到溶液均匀。（注意：此时溶液应该会轻微混浊。）
7. 将样品在 2-8°C 下孵育 30 分钟。
8. 孵育后，将样品在室温下以 10,000×g 离心 5 分钟。（注意：对于小鼠血浆，在 4°C 下离心 30 分钟。）
9. 通过移液器吸出上清液并丢弃，此时外泌体包含在试管底部的颗粒中。
10. （可选步骤）再次以 10,000×g 转速离心试管 30 秒收集任何可能残留试剂，小心吸弃任何残留的上清液。
11. 继续“外泌体重悬”步骤

IIB: 外泌体分离（无蛋白酶处理）：

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 1×PBS。
2. 将混合溶液彻底涡旋混匀。

- 加入 0.2 倍体积（即总体积=血浆+PBS）的血浆外泌体提取试剂至上述溶液中。

总体积=血浆+PBS	血浆外泌体提取试剂
100 μ l+50 μ l	30 μ l
1ml+0.5ml	300 μ l

- 充分混合血浆/血浆外泌体提取试剂混合物通过涡旋或吹打直到溶液彻底均匀。（注意：此时溶液应该会轻微混浊。）
- 将样品在室温下孵育 10 分钟。
- 孵育后，将样品在室温下以 10,000 \times g 离心 5 分钟
- 通过移液器吸出上清液并丢弃，外泌体包含在试管底部的颗粒中。
- （可选步骤）再次以 10,000 \times g 离心管 30 秒收集任何残留试剂，小心吸弃任何残留的上清液
- 继续“外泌体重悬”步骤

III: 外泌体重悬

- 将 1 \times PBS 或类似缓冲液添加到颗粒中并上下涡旋或吸管以重悬外泌体。

起始血浆体积	重悬体积
100 μ l	25-50 μ l
1ml	100-500 μ l

- 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 $^{\circ}$ C 中保存 1 周或在小于-20 $^{\circ}$ C 中长期保存

【注意事项】

- 血浆分离后尽快进行外泌体分离，保存在 4 $^{\circ}$ C 和-80 $^{\circ}$ C 都会对产量有一定的影响。
- 本品仅限用于科研实验