

磁珠法细胞外泌体提取试剂盒(CD63 亲和法)

货号: 26261

规格: 3mL/10mL

产品简介及说明:

1. 外泌体是含有 RNA、DNA 和蛋白质的小细胞外囊泡(50-200nm), 它们是由各种类型的细胞在培养过程中分泌的, 并在血液、唾液、尿液和母乳等体液中大量存在。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, 它们的形成、组成成分以及所参与的生物学过程仍不完全清楚。
2. 对外泌体功能和转运机制的生物学研究需要提取完整的外泌体, 但目前使用的提取方法复杂繁琐, 且特异性不高。磁珠法细胞外泌体提取试剂盒(CD63 亲和法)提供了一种简单可靠的方法从细胞培养基样品中提取完整的外泌体。试剂盒中的筛选磁珠与提取试剂结合后, 捕获样品的外泌体, 然后通过磁性分离即可获得。

试剂盒清单:

| 产品名称 | 3mL | 10mL | 储存条件 |
|------|-------|------|-------|
| 筛选磁珠 | 3mL | 10mL | 2-8°C |
| 试剂 A | 1.5mg | 5mg | -20°C |
| 试剂 B | 6mL | 25mL | 2-8°C |
| 洗脱液 | 6mL | 25mL | 2-8°C |

注: 需自备 PBS 缓冲液、0.22 μ m 低吸附针头过滤器、磁力架。

保存条件: 分类保存, 有效期 6 个月。

该方案以 1mL 筛选磁珠进行分离为例, 如需更大体积, 请按比例放大试剂用量。

使用说明:

1. 提取试剂的配制:

称取 0.5mg 试剂 A 于 1.5mL EP 管, 加入 1mL 试剂 B, 轻轻吹匀溶解, 制成提取试剂, 于 -20°C 保存。

2. 捕获磁珠的制备:

- a. 将筛选磁珠振荡混匀 10min 或涡旋 30s 重悬。
- b. 取一新的 2mL 或 5mL EP 管, 加入 1mL 重悬后的筛选磁珠, 置于磁力架上, 待磁珠完全被捕获后, 吸弃上清。
- c. 加入 1mL PBS 缓冲液, 将 EP 管从磁力架上取下, 上下颠倒 3-5 次, 充分混匀, 重新放回磁力架上, 待磁珠完全被捕获后, 吸弃上清。重复该步骤两次。
- d. 加入 1mL 配制好的提取试剂, 充分混匀, 置于摇床上, 4°C 孵育 1h。
- e. 将 EP 管置于磁力架上, 待磁珠完全被捕获后, 吸弃上清。
- f. 加入 1mL PBS 缓冲液, 将 EP 管从磁力架上取下, 上下颠倒 3-5 次, 充分混匀, 重新放回磁力架上, 待磁珠完全被捕获后, 吸弃上清。重复该步骤两次。

备注: 制备好的捕获磁珠可于 PSB 溶液中在 4°C 保存一周。使用前重新放回磁力架上, 待磁珠完全被捕获后, 吸弃上清。

3. 外泌体提取:

- a. 于含有捕获磁珠的 EP 管中加入 2mL 待提外泌体的样品(如培养基), 置于摇床上, 4°C 孵育 4h。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

- b. 将 EP 管置于磁力架上，待磁珠完全被捕获后，吸弃上清。
- c. 加入 1mL PBS 缓冲液，将 EP 管从磁力架上取下，上下颠倒 3-5 次，充分混匀，重新放回磁力架上，待磁珠完全被捕获后，吸弃上清。重复该步骤两次。
- d. 加入 750 μ L 洗脱液，使用移液器轻轻吹打混匀。将 EP 管置于磁力架上，待磁珠完全被捕获后，吸取上清液至新的 EP 管中，即为外泌体悬液。

备注：为获得高浓度的外泌体，可减小洗脱液体积并分三次洗脱(如：加入 100 μ L 洗脱液，使用移液器轻轻吹打混匀，将 EP 管置于磁力架上，待磁珠完全被捕获后，吸取上清液至新的 EP 管中，重复该步骤三次，共计 300 μ L。)

- e. 所得外泌体悬液使用 0.2 μ m 或 0.22 μ m 低吸附针头过滤器(自备)过滤，滤液即可用于下游实验。

备注：如需继续下游体内实验或细胞实验，建议于无菌环境或无菌超净台/生物安全柜内用无菌滤头过滤。所提取的外泌体在 2-8 $^{\circ}$ C 可保存 1 周，在 -20 $^{\circ}$ C 可长期保存。

注意事项：

1. 为节约试剂，可将样本按如下步骤进行浓缩，该步骤可能导致 1/3-1/4 外泌体的损失，请准备充足的样品量。
 - a. 收集细胞上清。
 - b. 4 $^{\circ}$ C，5000rpm 离心 30min，吸取上清，去除细胞沉淀。
 - c. 4 $^{\circ}$ C，10000rpm 离心 30min，吸取上清，去除细胞碎片和较大细胞囊泡。
 - d. 转移上清至 100kDa 超滤管(自备)中，4 $^{\circ}$ C，3800rpm 离心，待溶液浓缩至原体积的 1/10 时，收集浓缩液至新的 EP 管，用于后续外泌体提取实验。
2. 为了确保所分离的外泌体来源于您感兴趣的细胞，建议使用无外泌体胎牛血清(FBS)培养细胞，否则会导致所收集的细胞来源外泌体掺入胎牛血清外泌体，出现污染现象。若无法获得无外泌体胎牛血清，一些细胞系也可采用无血清培养的方式培养 12h，即可避免外泌体污染现象。
3. 本产品仅供研究使用。不适用于人类或动物的治疗或诊断用途。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com