

磁珠法细胞/血液外泌体提取试剂盒(CD63 亲和法)

货号: 26261

规格: 5mL/20mL

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或血液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 | 5mL | 20mL | 储存条件 |
|------|-------|------|-------|
| 筛选磁珠 | 5mL | 20mL | 2-8°C |
| 试剂 A | 2.5mg | 10mg | -20°C |
| 试剂 B | 10mL | 50mL | 2-8°C |
| 洗脱液 | 10mL | 50mL | 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, 尽量避免反复冻融。

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:



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

- a. 于含有捕获磁珠的 EP 管中加入 2mL 待提外泌体的样品(如培养基或血清、血浆等), 置于摇床上, 4°C 孵育 4h。
- 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°C 可保存 1 周, 加入外泌体保存液后可于 -20°C 或 -80°C 保存更长时间。

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(为防止血清中外泌体干扰, 可将细胞用无血清培养基培养 12-48 h, 具体时间请根据实验设计、细胞种类而定)。
 - b. 4°C, 5000rpm 离心 10min, 吸取上清, 去除细胞沉淀。
 - c. 4°C, 10000rpm 离心 15min, 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°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. 培养基的处理: 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 12-48 h(具体时间请根据实验设计、细胞种类而定), 即可避免外泌体污染现象。
3. 血液样本的保存: 建议使用抗凝管(除 EDTA 抗凝管以外, 其他种类抗凝管均可)或普通 EP 管收集血液 48h 内进行外泌体提取, 如血液样本经过 -20°C、-80°C 冻存或常温及 4°C 保存超过 48h, 可能会因外泌体部分破碎或降解及其他未知原因导致外泌体提取效率低。
4. 血液样本: 建议使用新鲜血浆或血清提取外泌体, 冻存或保存超过 48h 的血液来源样本可能会因为外泌体部分破碎或降解及其他未知原因导致外泌体提取效率低。
5. 如 2mL 培养基提取出的外泌体用 Western 或 NTA 等方法未检测到, 可能是外泌体浓度过低导致, 建议加大培养基使用量或将大量培养基浓缩后提取外泌体或加大 Western 的一抗、二抗及曝光时间以提高检测灵敏度。
6. 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。
7. 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