

Meilunbio exosome isolation kit (for plasma) 外泌体提取试剂盒（血浆）

产品编号：MA0403

规格：6ml

产品内容：

产品组成	
外泌体提取试剂盒（血浆）	6ml
Proteinase K (20mg/ml)	1.25ml
说明书	1份

产品简介：

外泌体是包含了复杂RNA和蛋白质的小膜泡(30-150纳米)，由不同类型的细胞在培养过程中分泌，在体液(包括血液、唾液、尿液和母乳)中大量存在。外泌体被认为是细胞间的信使，在特定的细胞之间传递效应物或信号分子。然而，外泌体的形成和组成以及它们所涉及的生物学途径仍不完全清楚。

外泌体功能和转运等生物学研究需要分离完整的外泌体，美仑外泌体提取试剂盒（血浆）(Meilunbio exosome isolation kit (for plasma))是专门用于分离血浆样本中外泌体的试剂。本产品提供了一种简单可靠的方法从血浆样本中浓缩完整的外泌体：通过捆绑水分子，迫使较难溶解的组分(即外泌体)离开溶液，经过简单的较低速度离心即可从样本中分离出大量外泌体。本产品与传统的超高速离心相比，样本中的外泌体所受到的压力较小，可以保持较完整的形态；同时提取过程所需要的时间更短、所需要的样本起始量更低、提取效率更高。使用本产品获得的外泌体可适用于多种下游实验，如RNA分析、高通量测序、细胞共培养等。

本试剂盒足够分离提取20mL血浆中的外泌体。

使用说明：

1、制备血浆

- 1) 在采血管中预先加入一定比例的抗凝剂，采集完血液后，将采血管缓慢颠倒混匀，混匀的全血室温静置 1h 或者 2-8℃ 静置过夜；
- 2) 4℃，3000xg 离心 5-10 分钟，上层的透明黄色液体即为血浆，小心转移上清至新的离心管中，注意切勿吸出下面的红细胞成分。
- 3) 收集到的血浆可直接用于后续提取外泌体实验或分装后于-80℃冰箱保存。

2、准备样品

- 1) 将血浆（新鲜样品或已于 25℃ 水浴解冻好的冷冻样品）冰上放置；
- 2) 4℃，2000xg 离心 20 分钟，去除残留细胞及碎片；
- 3) 将上清转移到新的离心管中（注意不要吸到底部沉淀）；
- 4) 4℃，10000xg 离心 20 分钟，去除残留碎片。
- 5) 将上清转移到新的离心管中，注意不要吸到底部的沉淀，冰上放置直至使用。

3、提取外泌体（使用Proteinase K处理）

通过蛋白酶K可以去除血浆中的大多数蛋白，但是一定程度也可能会造成外泌体表面蛋白的降解，如果这对于实验有影响，可以选择不进行蛋白酶K处理。

- 1) 根据实验需求，吸取适量离心后的血浆到新的离心管，加入 0.5 倍体积的 1xPBS；
- 2) 涡旋充分混匀；
- 3) 加 0.05 倍体积的 Proteinase K。例如，初始的血浆体积为 100ul，需加入 5ul Proteinase K；
- 4) 涡旋混匀，37℃ 孵育 10 分钟。
- 5) 加入 0.2 倍体积（总体积=血浆+PBS）的提取试剂；

血浆+PBS	加入提取试剂体积
100ul+50ul	30ul
1ml+0.5ml	300ul

- 6) 上下颠倒混匀或者通过移液器吹打混匀，直至成为均一的溶液；

注：加入提取试剂后，溶液会出现云雾状的浑浊现象。

7) 2-8℃孵育 30 分钟；

8) 孵育结束后，4℃，10000xg 离心 5 分钟；

注：小鼠血浆，孵育后 10000xg 离心 30 分钟。

9) 用移液器小心吸去上清液，尽量吸取干净。管底的沉淀即为提取的外泌体；

10) (可选步骤) 10000xg 离心 30s，去除残留的提取试剂；

11) 小心吸取并丢弃上清液体，然后按照“重悬外泌体”步骤进行操作。

4、提取外泌体（未使用 Proteinase K 处理）

1) 根据实验需求，吸取适量离心后的血浆到新的离心管，加入 0.5 倍体积的 1xPBS；

2) 涡旋充分混匀；

3) 加入 0.2 倍体积（总体积=血浆+PBS）的提取试剂；

血浆+PBS	加入提取试剂体积
100ul+50ul	30ul
1ml+0.5ml	300ul

4) 上下颠倒混匀或者通过移液器吹打混匀，直至成为均一的溶液；

注：加入提取试剂后，溶液会出现云雾状的浑浊现象。

5) 室温下，孵育 10 分钟；

6) 孵育后，4℃，10000xg 离心 5 分钟。

7) 用移液器小心吸去上清液，尽量吸取干净。管底的沉淀即为提取的外泌体。

8) (可选步骤) 10000xg 离心 30s，沉降残留的提取试剂。

9) 小心吸取并丢弃上清液体，然后按照“重悬外泌体”步骤进行操作。

5、重悬外泌体

1) 可以使用 1xPBS 或者其他类似的缓冲溶液，通过移液器将沉淀充分吹打混匀；

血浆体积	重悬体积
100ul	25-50ul
1ml	100-500ul

2) 外泌体沉淀被重悬以后就可以进行下游分析或通过亲合法进一步纯化。

3) 将分离得到的外泌体保存在 2℃至 8℃，最长保存 1 周，或 ≤ -20℃ 长期保存。

注意事项：

- 1、外泌体提取试剂盒（血浆）不建议用于其他体液或者细胞上清液的外泌体提取。
- 2、如初始血浆体积较大（大于 1ml），建议优化或延长离心时间以确保获得足量的外泌体。
- 3、提取外泌体后，如需提取 RNA 和蛋白质，请使用外泌体 RNA 以及外泌体蛋白质的专用提取试剂盒。
- 4、血液组成成分复杂，对于部分困难样本，如高脂血，提取外泌体及后续处理需根据实际情况进行调整。

常见问题：

1、一次实验需要多少体积血浆？

至少 0.5 ml 血浆样本。更少的血浆体积虽也可以提出外泌体，但产量可能较低，不满足后续实验需求。

2、血浆外泌体提取为什么加蛋白酶 K？

血浆中含有大量蛋白，如纤维蛋白原等凝血因子，会对后续外泌体研究的一些实验造成不必要的影响。因此如果血浆提取的外泌体不进行蛋白研究，可预先使用 Proteinase K 进行消化；需注意 Proteinase K 可能会消化外泌体表面蛋白。

3、血浆外泌体沉淀如何重悬？

血浆提取的外泌体沉淀可使用适量 1 × PBS 或其他下游实验所需试剂进行重悬。沉淀重悬有时会较为困难，若后续实验对外泌体的完整性无要求，可使用低速匀浆器进行重悬。

保存条件：

外泌体提取试剂盒（血浆）：4℃ 保存，一年有效；

Proteinase K：-20℃ 保存，一年有效。