

TransExo[®] PS Exosome Isolation Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FE601

保存: 2-8°C保存一年。

产品说明

TransExo[®] PS Exosome Isolation Kit 以磁珠为核心原料, 通过磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) 亲和受体蛋白的作用, 特异性捕获血清、肝素血浆、尿液、细胞培养上清等多种样本中的外泌体。随后在温和的条件下, 用中性洗脱溶液将外泌体从磁珠上洗脱下来, 获得形态良好、结构完整的高纯度外泌体。提取的外泌体适用于 Western Blot、qPCR、电镜、纳米粒子追踪等多种检测, 同时可用于细胞共培养。

特点

- 相较于超速离心法, 特异性更强, 纯度更高。
- 洗脱条件温和, 提取的外泌体形态良好, 结构完整, 活性高。
- 操作简单, 无需超速离心, 能够在 3 小时内完成外泌体纯化。

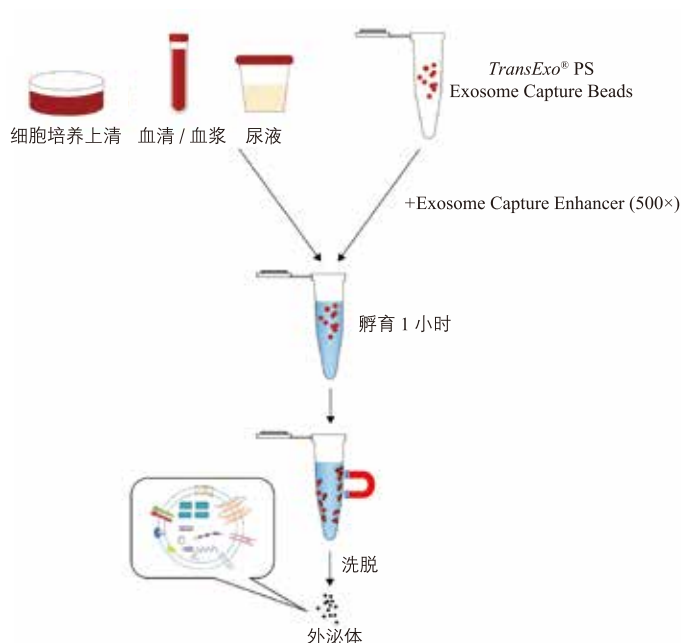
适用范围

血清、肝素血浆、细胞培养上清、尿液等。

试剂盒组成

Component	FE601-01(20 rxns)
TransExo [®] PS Exosome Capture Beads	1 ml
Wash Buffer (10×)	10 ml
Exosome Capture Enhancer (500×)	300 μl
Elution Buffer (10×)	500 μl
1.5 ml Reaction Tube	20个

操作流程示意图



操作步骤

自备

Product Name	Catalog
PBS (1×)	TransGen, Cat. FG701-01
100 K超滤离心管	PALL, Cat. MAP100C36

适配于 1.5 ml 离心管的磁力架

低温高速离心机 (Max > 10,000×g)

旋转混匀仪

0.22 μm 滤器

1. 样本制备

(1) 血清 / 肝素血浆 / 细胞上清

取新鲜或 -80°C 保存的血清 / 肝素血浆 / 细胞上清样本，300×g，2-8°C 离心 5 分钟，去除细胞；小心转移上清至新的离心管，2000×g，2-8°C 离心 10 分钟，去除样本中细胞碎片；小心转移上清至新的离心管，10,000×g，2-8°C 离心 30 分钟，去除大粒径囊泡；再次转移上清至新的离心管，并用 0.22 μm 滤器对上清进行过滤处理。

注：以细胞上清为样本进行外泌体提取时，需用无血清培养基或外泌体去除培养基进行细胞培养，于 12-72 小时后收集细胞上清。建议将过滤后的细胞上清进行浓缩处理，例如用 100 K 超滤离心管将 50 ml 细胞上清浓缩为 1 ml。

(2) 尿液

取新鲜或 -80°C 保存的尿液样本，300×g，室温离心 5 分钟，去除细胞；小心转移上清至新的离心管，2000×g，室温离心 10 分钟，去除细胞碎片；小心转移上清至新的离心管，10,000×g，室温离心 30 分钟，去除大粒径囊泡；再次转移上清至新的离心管，并用 0.22 μm 滤器对上清进行过滤处理。

注：尿液样本 -80°C 保存复溶后可能会出现浑浊，需进行振荡混匀，使其恢复至澄清状态。尿液样本离心需在室温进行。建议将过滤后的尿液进行浓缩处理，例如用 100 K 超滤离心管将 50 ml 尿液浓缩为 1 ml。

2. 缓冲液制备

(1) 配制 Wash Buffer (1×)：用 ddH₂O 对 Wash Buffer (10×) 进行稀释，同时加入 Exosome Capture Enhancer (500×) 使其工作浓度为 1×。一个样本按照 3 ml Wash Buffer (1×) 工作液准备，加入量如下表所示。配制完成后 2-8°C 保存，当天使用。

Component	Volume
Wash Buffer (10×)	300 μl
Exosome Capture Enhancer (500×)	6 μl
ddH ₂ O	2.7 ml
Total	3 ml

(2) 配制 Elution Buffer (1×)：用 PBS (1×) 对 Elution Buffer (10×) 进行稀释，使其工作浓度为 1×。一个样本按照 150 μl Elution Buffer (1×) 工作液准备，加入量如下表所示。配制完成后 2-8°C 保存，当天使用。

Component	Volume
Elution Buffer (10×)	15 μl
PBS	135 μl
Total	150 μl

3. 外泌体提取

(1) 取出试剂盒中的 *TransExo*[®] PS Exosome Capture Beads，轻轻震荡混匀。以 500 μl 血清样本为例，吸取 50 μl 磁珠于 1.5 ml Reaction Tube。



- (2) 向磁珠中加入 500 μ l Wash Buffer (1 \times), 震荡混匀后置于磁力架上 1 分钟, 磁珠被吸附在管壁至溶液澄清, 小心吸弃上清。
- (3) 从磁力架上取出 Reaction Tube, 向磁珠中再次加入 500 μ l Wash Buffer (1 \times), 震荡混匀后置于磁力架上 1 分钟, 磁珠被吸附在管壁至溶液澄清, 小心吸弃上清。
- (4) 向清洗好的磁珠中加入制备好的 500 μ l 血清样本, 同时加入 1 μ l Exosome Capture Enhancer (500 \times), 充分吹打混匀。

不同样本的推荐磁珠用量如下表所示:

样本	<i>TransExo</i> [®] PS Exosome Capture Beads	Exosome Capture Enhancer (500 \times)
500 μ l 血清/肝素血浆	50 μ l	1 μ l
1 ml 浓缩后的细胞上清/尿液	50 μ l	2 μ l

注: 用 1.5 ml Reaction Tube 进行孵育时, 每管样本量最适体积为 500 μ l~1 ml。

- (5) 将 Reaction Tube 放于旋转混匀仪中, 2-8 $^{\circ}$ C 或者室温条件旋转孵育 1 小时。

注: 提取尿液外泌体时, 只能在室温条件下孵育。

4. 外泌体洗脱

- (1) 将孵育后的 Reaction Tube 置于磁力架上 1 分钟, 至磁珠被完全吸附于管壁, 小心吸弃上清。
- (2) 从磁力架上取出 Reaction Tube, 加入 1 ml Wash Buffer (1 \times), 轻轻吹打数下后置于磁力架上 1 分钟, 磁珠被吸附在管壁至溶液澄清, 小心吸弃上清。
- (3) 重复步骤 (2), 对磁珠进行第二次清洗。
- (4) 从磁力架上取出 Reaction Tube, 加入 75 μ l Elution Buffer (1 \times), 用移液器轻轻吹打 2 分钟进行洗脱。
- (5) 将 Reaction Tube 置于磁力架上 1 分钟, 磁珠被吸附在管壁至溶液澄清, 小心吸取上清至新的自备离心管中。
- (6) 向 Reaction Tube 里再次加入 75 μ l Elution Buffer (1 \times), 用移液器轻轻吹打 2 分钟, 对磁珠进行第二次洗脱。
- (7) 将 Reaction Tube 置于磁力架上 1 分钟, 磁珠被吸附在管壁至溶液澄清, 小心吸取上清, 和第一次所得洗脱溶液混合在一起, 即为外泌体纯化产物。
- (8) 纯化后的外泌体短期内可以 2-8 $^{\circ}$ C 保存, 也可以分装后保存在 -80 $^{\circ}$ C, 避免反复冻融。

注: 对于血浆 / 血清样本, 使用 2 \times Elution Buffer 进行洗脱, 会获得更高的洗脱效率。如需获得更高浓度的外泌体, 可减少 Elution Buffer 的用量, 并适当延长洗脱时间。如果提取的外泌体用来提取 RNA, 建议减少 Elution Buffer 的用量, 并延长洗脱时间, 以避免过量洗脱液影响 RNA 提取效率。

注意事项:

- 试剂盒组分请于 2-8 $^{\circ}$ C 保存, 切勿冷冻。
- *TransExo*[®] PS Exosome Capture Beads 如黏附在管帽处, 可进行低速瞬时离心, 禁止高速长时间离心。吸取磁珠时建议使用低吸附吸头, 避免磁珠损耗。
- 如外泌体提取后进行纳米粒子追踪分析或电镜检测, 建议选择新鲜样本。同时建议将最终得到的外泌体溶液进行第二次磁性分离, 务必除尽溶液中残留磁珠。
- 血浆样本推荐肝素抗凝血浆。本试剂盒不推荐用于 EDTA 血浆和柠檬酸 (枸橼酸) 血浆的外泌体提取。
- Wash Buffer (1 \times) 一定要现用现配, 长时间放置会产生沉淀, 影响使用效果。
- 对于外泌体含量高的样本, 可适当延长孵育时间, 以获得更高的提取量。





品质高于一切
精品服务客户

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202210

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com.cn

Website www.transgen.com.cn
E-mail trans@transgen.com.cn

Customer Service +86-400-898-0321
Phone +86-10-57815030

