**外泌体提取试剂盒**

**（细胞培养液/尿液）**

**货号：KTSM3005**

**■ 产品简介：**

Exosome（外泌体）是活细胞分泌的直径约为30-150nm间的膜性囊泡，其天然存在于生物的体液中，包括血液、尿液、唾液、脑脊液、乳液等。Exosome中携带有细胞溶质蛋白、smRNA、各种代谢酶等，参与各种细胞功能调控，有望成为多种疾病的早期诊断标志物。近期的研究发现外泌体还可以运输核酸，参与细胞间通讯，参与细胞间的物质交换和信息交流，影响细胞的生理状态，并与多种疾病的发生与进程密切相关。Exosome在药物载体运输，肿瘤生物学和基因调控研究等方向已经成为研究热点。

Exosome Isolation Regent用于高效、快速、方便的从血浆、细胞培养上清液、尿液、组织液中体取exosome的试剂盒。仅需通过简单操作和常规离心机即可从样本内中获取大量结构完整的exosome。相比传统的超速离心法，Exosome Isolation Regent提取效率更高，更节省时间和样本，提取的exosome可用于Western Bloting、qPCR、功能验证、Elisa等后续实验。

**■试剂盒适用范围**：

本试剂盒只适用于细胞培养液或尿液的外泌体提取，仅用于科学研究。

**■试剂组分**：

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **试剂组分** | **组分编号** | **规格** | **储存条件** |
| Exosome Isolation Regent A | KTSM3005-A | 50 ml | 4°C |
| Exosome Isolation Regent B | KTSM3005-B | 100 ml | 4°C |
| Exosome Isolation Regent C | KTSM3005-C | 5 ml | 4°C |

**■保存条件**：

请于4°C保存，可稳定保存一年。（可常温运输）

**■流程介绍**：

样品预处理→沉淀外泌体→外泌体重悬→外泌体纯化

**■样品准备**：

细胞培养液/尿液：

1.收集样品后置于冰上，2000g离心10 min，以除去残留细胞；

2.收集上清液，10000g离心10 min，以除去细胞碎片；

3.将上清液置于超滤管（100kd）中进行超滤浓缩；

4.收集超滤管内液体提取exosome或4°C保存；

**注：如需进行下游核酸（DNA或RNA）相关实验，建议初始样品量不低于20 ml。**

**■ Exosomes提取：**

（1）转移上清液至新的离心管中，加入体积比为2：1(V样：VA=2：1)的Exosome Isolation Regent A液；

（2）颠倒混匀3-5次后于4°C静置5 min后 10000g离心2 min；

（3）取上清液转移置新的离心管中，加入体积比为1：1的Exosome Isolation Regent B液；

（4）颠倒混匀3-5次后于4°C静置1h-2h后 13500 g 离心30 min后弃去上清液；收集沉淀，此沉淀即为外泌体；

（5）根据后续实验加入100-200µl Exosome Isolation Regent C重悬沉淀物，进行后续实验或-80°C保存（由于细胞培养液/尿液中外泌体浓度低，一般是不能看到有明显的沉淀物，因此加入Exosome Isolation Regent C后室温放置15 min 后用移液器沿着管壁轻轻吹打后，外泌体会自然溶解。TEM、WB实验中均能够检测到）。

**注意：如对提取效率有要求，可适时延长离心时间，但建议离心时间不超过1h。**

**■ 常见问题：**

**Q1：提取的外泌体如何保存？**

A1：外泌体可在2-8℃保存一周，若需长时间保存，建议放置于-80℃冰箱冻存，避免反复冻融。

**Q2：如何鉴定提取的外泌体？**

A2：外泌体是体细胞分泌的细胞外囊泡群体中一种，直径一般为30-150nm，通常确定外泌体一般需要三个条件：透射电镜（TEM）形态观察，颗粒粒径测定（NTA）和蛋白标志物检测（外泌体标志蛋白有CD9、CD81、CD63、Alix、TSG101 等）。

**Q3：将Exosome Isolation Reagent加入到体液样本中后，颠倒混合。请问这一步是否可以用振荡器剧烈震会对效果有影响？**

A3：只需将Exosome Isolation与待提取样品混合均匀即可，震荡的强度不宜过分剧烈，剧烈震荡会影响提取效果。

**Q4：与超速离心方法相比本试剂盒提取外泌体方法有哪些优势？**

A4：本试剂盒具有操作简单，便捷，提取效率高，可达90%以上，不需要额外仪器设备，可小体积样本提取等特点。