

# Hieff® Quick exosome isolation kit Plus(for Urine)

## 尿液外泌体快速提取分离试剂盒 Plus

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff® Quick exosome isolation kit Plus(for Urine)	41207ES05	5 T
尿液外泌体快速提取分离试剂盒 Plus	41207ES20	20 T

### 产品简介

Exosome (外泌体) 是由活细胞分泌的直径约为 30-150 nm 的小囊泡, 具有典型的脂质双分子层结构, 存在于细胞培养上清液、血清、血浆、唾液、尿液、羊水以及其它生物体液中。Exosome 携带有多种蛋白质、脂类、DNA 和 RNA 等重要信息, 不仅在细胞与细胞间的物质和信息传递中起重要作用, 更有望成为多种疾病的早期诊断标志物。

本试剂盒采用独特的分离技术, 可以快速从尿液中获得大量完整的外泌体颗粒, 适用于下游的细胞共培养、电镜分析、Western Blot、荧光定量 (qPCR) 和高通量测序等应用。

### 组分信息

组分编号	组分名称	41207ES05	41207ES20
41207-A	Exosome isolation solution (Urine) *	30 mL	120 mL
41207-B	Exosome Buffer*	2 mL	10 mL
41207-C	50 mL 过滤柱	5 个	20 个

\* Nuclease-free, Sterile

### 储存条件

室温运输, 室温保存, 有效期 2 年。

### 注意事项

- 使用前请将外泌体抽提试剂 (41207-A) 充分混匀;
  - 将外泌体样本与裂解液按体积比 1:1 混匀后置于冰上裂解 10 min;
  - 于 4°C 以 12,000×g 离心 5 min 取上清, 用 BCA 法测定蛋白浓度及进行 Western Blot 等后续实验;
  - 进行 Western Blot 实验时, 取 CD81 阳性对照品 5 - 20 μL 与实验样品平行上样;
- 注: 初次使用 CD81 阳性对照品时, 可根据自身实验条件, 通过预实验确定合适的上样量以获得最佳的实验结果;
- 二抗 Goat anti-Rabbit IgG antibody (HRP) 稀释比例建议为 1:2000~1:5000;
  - CD81 阳性对照品上样前需 70°C 煮样 5 min, BCA 及 Western Blot 实验相关试剂需自备。

### 操作方法

#### 1. 样本预处理

- 收集新鲜的样品, 置于冰上待用; 若为冻存的样品, 可于冰箱取出后放于 25°C 水浴中解冻, 待完全融化后置于冰上待用。将外泌体样本与裂解液按体积比 1:1 混匀后置于冰上裂解 10 min;

- 2) 取 25 mL (单次样品量不能低于 25 mL) 体液样品转移至离心管中, 2-8°C, 3000 × g 离心 10 min, 弃沉淀 (可多次离心至无明显沉淀), 并将上清转移至过滤柱 (41207-C) 中。(可多次离心至无明显沉淀)
- 3) 将过滤柱转移至离心机中, 2-8°C, 3000×g 离心 10min, 取过滤柱收集管中的液体, 转移至新管中。

## 2. 外泌体分离

- 1) 向预处理后的样品中, 按照下表加入 Exosome isolation solution (其他样品量根据表中试剂用量进行等比例变换)

Urine	41207-A 试剂用量
25 mL	5 mL
50 mL	10 mL

- 2) 盖紧离心管盖, 涡旋振荡 1 min, 放置于 2-8°C 冰箱静置 2 h;
- 3) 取出装有混合液的离心管, 2-8°C, 10,000×g 离心 60 min, 弃上清 (尽可能吸净上清液), 收集富含外泌体的沉淀。
- 4) 吸取一定量体积的 Exosome Buffer 溶液均匀吹打离心沉淀物, 待其充分悬浮于 Exosome Buffer 后, 将悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中。

【注】加入 Exosome Buffer 的量, 建议根据初始样本的体积决定, 初始样本体积: Exosome Buffer 体积=50:1。

- 5) 将含有重悬液的 1.5 mL 离心管于 2-8°C, 12,000×g 离心 5 min, 弃沉淀, 保留上清液, 该上清液即富含外泌体颗粒的溶液。

【注】此时如果依然可以看到明显的沉淀, 建议重复步骤 5, 多次离心至无明显沉淀。

- 6) 外泌体的保存: 纯化后的外泌体可于 2-8°C 保存 3 天, 分装后于 -80°C 长期保存, 避免反复冻融。

## 3. 外泌体除菌(可选)

获得的外泌体后期需要与细胞共培养, 可以使用 0.22 μm 的滤器进行过滤除菌。初次尝试时, 外泌体浓度在 10-100 μg/mL 内做梯度摸索, 选择一个较为合适的条件。