

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)	41207ES02	2 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	41207ES02	41207ES20
41207-A	Exosome Concentration Solution*	12 mL	120 mL
41207-B	Exosome Solution Buffer*	1 mL	10 mL
41207-C	50 mL 过滤柱	2 个	20 个

* Nuclease-free, Sterile

储存条件

室温运输, 室温保存, 有效期 2 年。

使用说明

1. 样本预处理

- 1) 取样: 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;
- 2) 样品初始用量: 单次提取时的尿液量建议不低于 20 mL;
- 3) 离心去细胞碎片: 将样品转移至离心管中, 于 4°C 以 3,000 ×g 离心 10 min, 去除样品中的细胞碎片 (若沉淀较多, 可 3,000 ×g, 10 min 离心多次至无明显沉淀, 每次取离心上清液);
- 4) 离心去杂质碎片: 将离心上清液转移至新的离心管中, 于 4°C 以 10,000 ×g 离心 10 min, 去除样品中的杂质碎片;
- 5) 样本过滤: 去除杂质碎片的离心上清液转移到 50 mL 离心过滤柱中, 于 4°C 以 3,000 ×g 离心 10 min, 取过滤柱下室液体 (注: 若上室中有残留液体, 可重复本步骤获取更多样本量);
- 6) 上清液转移: 去除杂质碎片的上清液转移到新离心管中。

2. 外泌体提取

1) 上清液预处理：在去除杂质的离心上清液中加入 41207-A 试剂，具体的加入量如下(其他样品量根据表中试剂用量进行等比例变换)：

样品名称	样品量	41207-A 试剂用量
尿液	20 mL	4 mL

2) 溶液混合：加入 41207-A 试剂后将离心管盖紧，通过涡旋振荡器混匀 1min，再放置 4°C 静置 8h 以上(注：增加静置时间可提高外泌体得率，但不可超过 24h)；

3) 沉淀外泌体：取出装有混合液的离心管于 4°C 以 $10,000 \times g$ 离心 60 min，弃上清，沉淀中富含外泌体颗粒(注：尽可能吸尽上清液)；

4) 再次离心：将含有沉淀的离心管再次于 4°C 以 $10,000 \times g$ 离心 2 min，弃上清(注：尽可能吸尽上清液)；

5) 外泌体重悬：取合适量的 41207-B 试剂均匀吹打离心沉淀物，待其溶解后，将重悬液转移至新的 1.5 mL 离心管中(建议每 20 mL 尿液用 200 μ L 左右 41207-B 试剂重悬)；

7) 收获外泌体颗粒：将含有重悬液的 1.5 mL 离心管于 4°C 以 $12,000 \times g$ 离心 2 min，保留上清液，其中富含外泌体颗粒(若沉淀较多，可 $12,000 \times g$, 2 min 离心多次至无明显沉淀，每次取离心上清液)；

8) 外泌体的保存：纯化后的外泌体以合适体积进行分装冻存于 -80°C 低温冰箱中，以备后续实验使用。

注意事项

1. 使用前请将外泌体抽提试剂 (41207-A) 充分混匀；
 2. 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；
 3. 于 4°C 以 $12,000 \times g$ 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；
 4. 进行 Western Blot 实验时，取 CD81 阳性对照品 5 - 20 μ L 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；
5. 二抗 Goat anti-Rabbit IgG antibody (HRP) 稀释比例建议为 1:2000~1:5000；
 6. 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。