



产品使用说明书

外泌体提取试剂盒（乳液）

Cat.# DL25528-20T

多莱泌生物科技（武汉）有限公司
Duolaimi biotechnology (Wuhan) Co., Ltd.

目录

保存和应用.....	2
产品介绍.....	3
自备材料.....	3
试剂盒组成.....	4
实验步骤.....	4
常见问题.....	5
技术支持.....	6

保存与应用

【保存条件】

常温或 4℃ 运输，收到试剂盒后直立放置，置于 2-8℃ 保存，有效期 12 个月。

请勿冷冻！

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

产品介绍

外泌体 (Exosome) 是由不同细胞分泌的直径 30-150nm 的胞外膜性囊泡 (Extracellular Vesicles, EVs)。外泌体普遍存在于多种体液中，其内容物丰富，包括蛋白质、脂质和核酸等，在细胞间信息交流中发挥着重要作用，主要参与免疫抗原呈递，神经递质传递，脂类代谢及细胞信号转导等过程，并与多种疾病的发生、发展、治疗及预后密切相关。

外泌体的生物学功能研究中需要分离完整的外泌体颗粒，而传统超速离心方法步骤繁琐、硬件要求高、操作难度大。多莱泌生物自主开发的外泌体提取试剂盒，组分经过优化处理，适用于乳液中的外泌体提取，可快速高效地获得外泌体颗粒，可用于电镜分析、NTA 粒径分析、核酸分析、蛋白分析、细胞学实验和动物实验等。

【自备材料】

高速离心机（温度可到4℃，离心力可达10,000 ×g）

涡旋振荡器

电子天平

移液器

50 mL离心管

1.5 mL离心管

1×PBS 缓冲液（无菌）

试剂盒组成

组分名称	规格	保存温度
Solution A	50 mL	RT
Solution B	70 mL	RT
Solution C	70 mL	RT
Solution D	110 mL	RT
50 mL 离心过滤柱	20 个	RT

操作步骤

1. 样本预处理

- 1.1、**取样**：如果是冻存样品，从冰箱取出后于 25℃ 水浴中进行解冻，将完全融化后的样品置于冰上，如果是新鲜样品，收集样品后置于冰上；
- 1.2、**样品初始用量**：单次提取时的乳液量建议 25-50 mL；
- 1.3、**离心去脂**：将样品转移至离心管中，于 4℃ 以 10,000 ×g 离心 30 min，去除样品中的脂质及部分蛋白（注：离心后样品分为三层，上层为脂质层，下层为蛋白沉淀，中间层为乳清。离心后上层状态为“致密、稳定、不易脱落”，若上层“松软、易脱落”且下层沉淀较多，可重复此步骤，每次离心取中间层液体）；
- 1.4、**乳清转移**：将去除脂质的乳清（中间层液体）转移至新的 50 mL 离心管中（注：可用枪头将上层脂质戳破后缓慢倾倒，或用移液器转移，转移后的乳清中带有少量脂质和沉淀是正常现象，不影响后续实验）。

2. 去除杂蛋白

- 2.1、**乳清澄清**：乳清中加入 Solution A，将离心管颠倒混匀，再加入 Solution B，颠倒混匀后于 2-8℃ 静置 5 min；（注：静置完成后轻轻晃动离心管，呈现“豆花状”固体，液体部分为“透明状”。若未呈现“豆花状”，可再适当加入 Solution B 至混匀后轻晃管壁有“豆花状”）；

乳清体积	Solution A用量	Solution B用量
20 mL	2 mL	2.5 mL

注：具体加入试剂A,B用量，可根据上表等比例换算

2.2、乳清除杂：离心去杂蛋白：将澄清后的乳清于4℃以10,000×g离心20 min，收集上清液；

（注：若上清可见白色颗粒，建议复此步骤，避免下一步离心过滤困难。）；

2.3、上清液过滤：将收集的上清液转移至50 mL离心过滤柱中，于4℃以3000×g离心 10 min（注：若未过滤完，可重复离心至上层液体全部离下来为止。）；

2.4、缓冲体系平衡：将过滤后的上清液转移至新的50 mL离心管中，加入Solution C后颠倒混匀（注：Solution C 加入剂量和 Solution B剂量保持一致）。

3. 外泌体提取

3.1、加入外泌体提取液：在加入 Solution C 后的上清液中加入Solution D，具体加入剂量如下（其他剂量请根据表中的用量等比例换算）：

乳清体积	Solution D用量
20 mL	5 mL

3.2、溶液混合：加入 Solution D 后将离心管盖紧，通过涡旋振荡器混匀 1 min，再放置于 4℃静置4h以上（注：增加静置时间可提高外泌体得率，但不可超过24h）；

3.3、沉淀外泌体：取出装有混合液的50 mL离心管于 4℃以 10,000 ×g 离心30 min，**弃上清**，沉淀中富含外泌体颗粒（注：尽可能吸尽上清液）；

3.4、再次离心：将含有沉淀的离心管再次于 4℃以 3,000 ×g 离心5 min，**弃上清**（注：尽可能吸尽上清液）；

3.5、外泌体重悬：取合适量的 1×PBS 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乳清用200 μL左右1×PBS重悬）；

3.6、收获外泌体颗粒：将含有重悬液的 1.5 mL离心管于4℃以 10,000 ×g 离心 2 min，**保留上清液**，其中富含外泌体颗粒（注：若沉淀较多，可10,000 ×g，2 min 离心多次至无明显沉淀，每次取上清液，外泌体溶液可能带有淡淡的乳白色，此为正常现象）。

3.7、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℃低温冰箱中，以备后续实验使用。

注：外泌体的无菌处理：若需要无菌处理，可将外泌体用0.45 μm滤器过滤后使用。

常见问题

Q1：该试剂盒适用什么类型的样本？

A1：该试剂盒适用于牛奶、羊奶、马奶、驼奶等初始乳液，不建议奶粉样本提取。

Q2：该试剂盒提取的外泌体可用于哪些实验？

A2：该试剂盒提取外泌体可用于电镜分析、NTA 粒径分析、核酸分析、蛋白分析、细胞学实验和动物实验等。

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：<http://www.dlmbiotech.com>
同时可通过电话或 Email 联系技术支持。

公司：多莱泌生物科技（武汉）有限公司

地址：湖北武汉东湖新技术开发区高新大道888号高农生物园总部B区1栋4楼

邮编：430000

座机：027-63495551 电话：18271200073

邮箱：dln_eb_support@dlmbiotech.com



微信公众号



市场部微信