



外泌体分离试剂盒 (SEC 法)

产品描述

本试剂盒基于分子排阻色谱原理 (SEC 法), 通过分子大小差异实现外泌体分离, 具有操作简便、高纯度和高回收率的优点, 特别适用于大体积样本的外泌体分离。分离的外泌体可用于 WB 分析、NTA 或纳米流式粒径分析、电镜检测、组学研究及细胞和动物实验中的功能研究。本试剂盒最常用于细胞培养上清、尿液等大体积样本, 也适用于血清、血浆等样本。

订购信息

产品名称	货号	规格
外泌体分离试剂盒 (SEC 法)	AC25L434	4T

产品组分

组分	4T	保存条件
A. Exosome Purification Column (10mL)	4 个	4°C
B. Column Adapter (10mL)	4 个	常温

运输与保存

常温运输。组分 A 在 4°C 保存, 组分 B 常温保存, 有效期 12 个月。

使用方法

自备仪器、试剂与耗材: 高速冷冻离心机、离心管、超滤管 (MWCO: 50 kDa)、PBS (现配现用, 0.2um 过滤, 超声或真空脱气)、20%乙醇 (现配现用, 0.2um 过滤, 超声或真空脱气)、纯化柱固定器 (自行购买或者合适的固定试管铁架台, 以避免操作过程中发生晃动)

1. 样品预处理

- 去除细胞: 将样品在 4°C、300g 离心 5 min, 转移上清至新离心管; 无细胞样本可跳过此步骤。
- 去除细胞及碎片: 4°C、2,000g 离心 10 min, 转移上清至新离心管。
- 去除大体积颗粒: 步骤 (2) 得到的上清, 在 4°C、14,000g 下离心 30 min, 转移上清至新离心管。

2. 纯化柱预处理

- 将外泌体纯化柱 (Exosome Purification Column(10mL)) 安装在纯化柱固定器上, 下方放置废液槽。让纯化柱在室温 (18-25°C) 平衡至少 30 min; 温度过低或过高会影响分离效果。
- 检查纯化柱下端是否充满液体, 如无空气可跳过此步骤; 若有空气, 将纯化柱倒置, 打开下端密封帽, 用移液器或注射器注入水或 20% 乙醇顶出空气, 使密封帽中充满液体后重新盖上, 并放回固定器。
- 打开纯化柱顶盖, 再打开下端密封帽, 弃去封柱液 (可倒掉或用移液器吸出), 将纯化柱适配器 (Column Adapter (10 mL)) 连接到纯化柱, 从顶部加入 2 倍柱体积 (20 mL) PBS 进行平衡, 至下端无溶液流出。清洗过程中确保顶部筛板始终保持湿润。完成后, 盖上下端密封帽, 断开适配器, 并加入 1 mL PBS 备用。

注:

- 每次操作前应先打开纯化柱上盖, 再打开下端密封帽, 以避免空气进入, 影响分离效果。
- 分离过程中确保纯化柱顶部筛板始终湿润, 以保持最佳分离效果。



- ③ 向纯化柱中加入大体积溶液时, 可将适配器连接到纯化柱, 将溶液加入到适配器中。
- ④ PBS 建议新鲜配制并通过 0.2 μm 滤膜过滤, 或使用商业的无菌 PBS 以防微生物或颗粒污染。PBS 使用前必须平衡至室温, 以避免纯化柱中出现气泡影响分离效果。

3. 分离外泌体

- (1) 样品上样: 移除纯化柱中的 PBS, 在上方加入 1 mL 样本; 如样本不足 1 mL, 可用 PBS 补至 1 mL, 混匀后上样。取下纯化柱底部密封帽, 待样本全部进入纯化柱后再加 PBS。

注:

- ① 如样本体积超过 1 mL, 建议用 50 kDa 超滤管将样本浓缩至 1 mL, 浓缩倍数不超过 20 倍 (具体操作见超滤管使用说明书)。
 - ② 对于高粘度样本 (如血浆、血清、高粘度胸腹水等), 可取 0.5 mL 样本用 PBS 稀释至 1 mL, 混匀后上样。
 - ③ 待样品完全进入筛板后再加入 PBS, 以避免样品被稀释影响分离效果。
- (2) 外泌体分离: 在纯化柱下方放置 1.5 mL 离心管, 向上方加入 0.5 mL PBS, 待下方收集到 0.5 mL 馏分后, 继续加入 0.5 mL PBS, 并更换新的 1.5 mL 离心管收集。按流出顺序标记各馏分管编号。
 - (3) 外泌体收集: 收集 4、5、6、7、8 号馏分管以获得外泌体, 其中 5、6、7 号馏分管的外泌体浓度更高。可直接对收集液测定外泌体颗粒数和蛋白浓度。
 - (4) 外泌体浓缩: 测定外泌体颗粒浓度和蛋白浓度后, 根据后续实验需求, 可选择是否进行浓缩。如需浓缩, 建议使用 MWCO 50 kDa 的超滤管, 在 4,000g 离心至所需体积即可。

4. 纯化柱维护

- (1) 收集所有馏分后, 将适配器连接至纯化柱, 从顶部加入至少 2 倍柱体积 (20 mL) PBS 清洗纯化柱, 至下方无溶液流出。
- (2) 继续加入 1.5 倍柱体积 (15 mL) 20% 乙醇清洗, 至下方无溶液流出。
- (3) 最后, 取下适配器, 向纯化柱中加入 3 mL 20% 乙醇封闭液, 安装纯化柱顶盖, 并在密封帽中填满 20% 乙醇, 盖到纯化柱下端出口, 于 4°C 直立保存。

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用, 不得用于临床诊断、治疗等领域。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 新购买或使用后的纯化柱, 上筛板和白色琼脂糖微球之间可能会出现一定的空隙, 这是储存和使用过程中凝胶沉降造成的, 并不影响纯化柱的性能, 将上筛板向下推至无空隙即可正常使用。
4. 本试剂盒最常用于细胞培养上清、尿液等大体积样本, 也适用于血清、血浆等样本。其他微量珍贵样本, 请向本公司技术人员咨询。
5. 纯化柱保存在封闭液中, 封闭液为 20%乙醇。20%乙醇建议现配现用, 同时经 0.2 μm 滤膜过滤、超声或真空脱气, 避免造成纯化柱出现大量气泡, 影响分离效果。
6. 每次纯化柱使用前需要使用无菌并平衡至室温的 PBS 清洗。PBS 建议现配现用, 同时经 0.2 μm 滤膜过滤、超声或真空脱气, 避免造成纯化柱出现大量气泡, 影响分离效果。
7. 纯化柱中间不能有气泡, 使用前需认真检查, 避免影响实验。
8. 纯化柱可以反复利用, 但是多次使用会影响效果, 建议重复使用不超过 5 次。
9. 当分离的外泌体进行 NGS 或者其他组学分析时, 为避免交叉污染, 建议每个样品使用一支新的纯化柱。