

外泌体分离提取试剂盒

使用说明书

【产品名称】

通用名称：大容量外泌体分离提取试剂盒

【包装规格】

5人份/盒

【试剂盒组成】

名称	规格
[分离管A]	20 mLx 5个
[分离管B]	20 mLx 5个
[分离管处理液]	20 mLx 1瓶

【预期用途】

本试剂盒用于从尿液样本、细胞培养上清中分离提取外泌体，所提取的外泌体纯度高、结构完整，适用于分子生物学研究及下游应用。

【储存条件及有效期】

干燥条件下室温（15-25℃）保存，有效期两年。

【用户自备耗材】

离心管、离心机（升降速可调）

【样本要求】

新鲜收集或短期保存于-20℃、长期保存于-70℃尿液或者细胞上清样本（避免反复冻融）。

【操作步骤】

一. 分离管B的预处理

在分离管B的内管中加入4mL分离管处理液，4℃。放置5-10 min,使用之前充分倒出处理液，立即使用，使用过程中分离管B内管的膜不可干燥。

二. 外泌体分离提取

1. 尿液样本或细胞培养上清充分混匀后，取25mL样本于50mL离心管，涡旋混匀 90s, 2500g 离心 5min。

2. 小心吸取21 mL上清，加入分离管A内管中，拧紧管盖，70g 离心 3min, 待液体全部流入下层外管。若离心后仍有液体在内管中，重复离心步骤至所有样本全部流入下层管中。

3. 取出分离管A的内管，将下层液体倒入或用移液器转移到分离管B内管中（分离管B已完成预处理），拧紧管盖，3040g离心45min（离心升降速：升1降9）。注意：分离管B放置于离心机时，应使离心管B内管竖直隔板对着离心机轴，膜均匀分布于两侧。若样本体积偏大，可适当延长离心时间至样本最小体积（约450 μL左右）

4. 若需替换外泌体保存缓冲液为PBS,不吸取样本可向分离管B中加入3mL PBS, 拧紧管盖，3040g离心15-25 min（离心升降速：升1降9；分离管B放置方法同3；离心时间可延长以减少样本最终体积）。不需替换直接进行下一步实验操作。

5. 倒出分离管B下层外管中的液体，使用200μL移液器小心吸取上层内管中的样本到一个无核酶干净的离心管中，该样本即为外泌体样本。

注：若需继续分离同一样本以获取更多的外泌体，可重复步骤1-5一次，注意第一次吸取样本时不要碰到分离管B上层内管下方的膜，防止破损影响重复使用的分离效果。

6. 所分离提取的样本短期保存于4°C或-20°C,长期保存于-70°C。

【参考值范围】

对于不同的尿液样本，得到的外泌体总量和粒径分布会有差异，通常20mL正常人新鲜晨尿样本，外泌体总量可达 10^{11} 个以上，外泌体粒径以90-140nm为主。

【注意事项】

1. 说明书中所有黑体字部分都非常重要，不能省略。
2. 新鲜样本提取效果最佳；若样本以冻存方式保存，避免反复冻融，提取前放置于4°C自然解冻。
3. 处理好的分离管B,使用过程中不可干燥，否则影响分离效果。
4. 若需重复分离同一样本，重复步骤1-5；为保证最佳的分离效果，建议每人份最多使用2次（共分离40 μL样本）。重复实验过程中分离管A和分离管B的膜不可干燥。
5. 将分离管B放置于离心机时，确保内管竖直隔板对着离心机轴，膜分布于两侧。
6. 建议采用吊桶式离心机，以达到最佳分离效果。
7. 尿液样本若为血尿，样本最终体积会偏高，且有部分红细胞干扰。
8. 本试剂盒涉及的检测样本应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合卫生部《微生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。
9. 本产品仅用于科学研究，不得用于临床用途。

【企业信息】

企业名称：上海冠泰生物科技有限公司

企业地址：上海市徐汇区银都路398号1号楼501室

邮政编码：200237

电话：021-51692391

电子邮件：support@biotnt.1com

【说明书修改日期】

2022-07-10