

# Exosome Isolation Kit (from plasma /serum)说明书

Cat.No.:EZB-exo1

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读本说明书，以保证操作正确

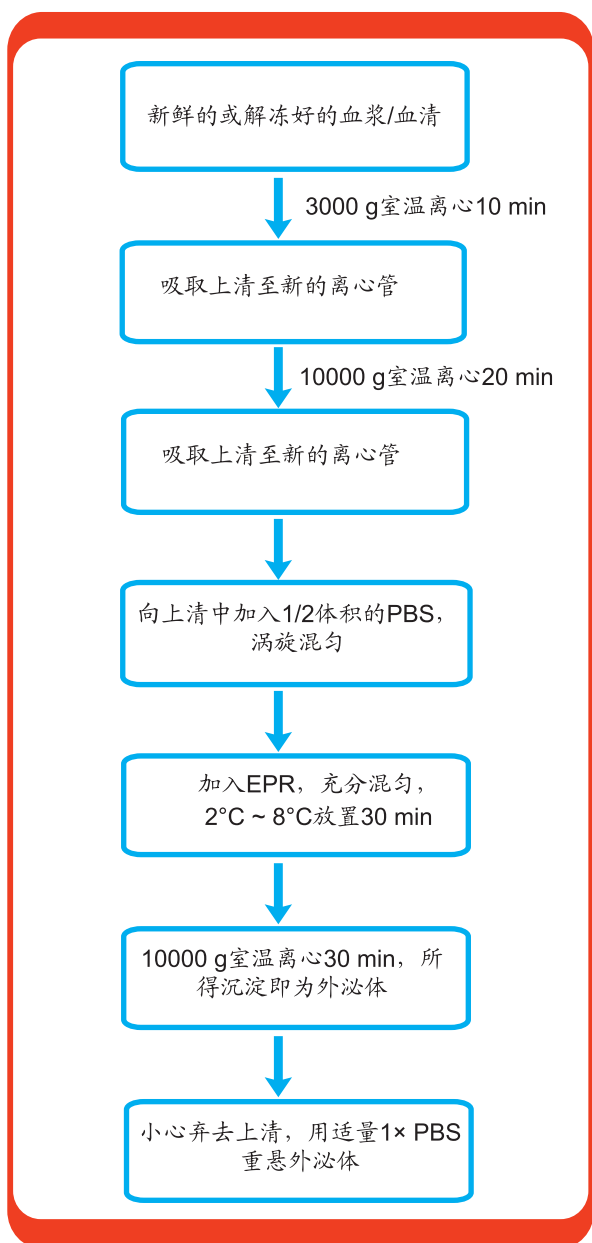
## 产品组分

组分	EZB-exo1
Exosome Precipitation Reagent (EPR)	20 ml

## 保存条件

所有组分建议置于2°C ~ 8°C保存。

## 实验流程



## 注意

1. 本试剂盒主要用于血浆和血清的外泌体提取，也可用于其它体液如精液、卵泡液等样品外泌体的提取，提取得到的外泌体主要用于核酸检测。
2. 若提取血浆/血清样品中的外泌体，则收集血液样品时，应防止溶血，以免对结果造成干扰；用于制备血浆的血液建议用柠檬酸（钠）或EDTA作抗凝剂，不建议用肝素/肝素钠作为抗凝剂。
3. 起始的血浆/血清样品用量可以在100  $\mu$ l ~ 1 ml之间调整。
4. Exosome Precipitation Reagent (EPR) 从4°C冰箱取出后需在30°C水浴锅中放置30 min，充分混匀后再使用。

## 准备血浆/血清样品

1. 将血浆/血清样品（新鲜样品或已于25°C ~ 37°C水浴中彻底融化的冷冻样品）冰上放置备用；
2. 室温（约20°C），3000 g离心10 min，去除残留细胞及碎片；
3. 用移液器小心地将上清转移至新的离心管中，注意不要吸到底部沉淀；
4. 室温、10000 g离心20 min，去除残留碎片；
5. 用移液器小心地将上清转移至新的离心管中（注意不要吸到底部沉淀），冰上放置备用。

## 分离外泌体

6. 向上述上清中加入1/2血浆/血清样品体积的1 $\times$  PBS，涡旋混匀；
7. 加入1/5总体积（总体积=血浆/血清体积+PBS体积）的Exosome Precipitation Reagent (EPR)；

Plasma/Serum + PBS	EPR
100 $\mu$ l + 50 $\mu$ l	30 $\mu$ l
1 ml + 500 $\mu$ l	300 $\mu$ l

8. 用移液器吹打或上下颠倒15 ~ 20次使溶液充分混匀，混匀后溶液呈现浑浊状态；
9. 将上述溶液在2°C ~ 8°C静置30 min；
10. 孵育结束后，室温、10000 g离心30 min（注：对于小鼠的血浆样品，应在4°C离心），用移液器小心地吸弃上清；
11. 室温、10000 g离心30 sec，用移液器小心地吸弃残留液体，外泌体即为管底部的沉淀。

## 重悬外泌体

12. 向外泌体沉淀中加入合适体积的1 $\times$  PBS，用移液器吹吸或者涡旋振荡以重悬外泌体。

Starting Plasma/Serum Volume	Resuspension Volume
100 $\mu$ l	25 ~ 50 $\mu$ l
1 ml	100 ~ 500 $\mu$ l

13. 获得的外泌体可立即进行下游实验；如不立即使用，则可在2°C ~ 8°C保存2天 ~ 1周，或者在-80°C长期保存。

## Exosome Isolation Kit (from plasma /serum) Trouble shooting

1、提取血浆/血清样品中的外泌体时有什么需要特别注意的地方？

### 制备血浆

- 1) 用采血针和抗凝管（推荐EDTA、柠檬酸钠等）抽取全血，将抗凝管上下颠倒10~15次使之充分混匀；
- 2) 4°C下静置3~4小时，1500 g、4°C离心10分钟，上层黄色半透明液体即为血浆，吸出血浆时贴着液面逐渐往下吸，不要吸到细胞成分；
- 3) 收集到的血浆可直接用于后续实验或者分装好于-80°C冰箱中保存。

**注意：**不建议用肝素抗凝，以免干扰后续实验。

### 制备血清

- 1) 采血后轻轻将全血滴入洁净的离心管或EP管；
- 2) 4°C下静置3~4小时（采血后10分钟内移至4°C环境静置），可见血块析出；也可室温放置40~60分钟；
- 3) 待血液凝固后，1500 g、4°C离心10分钟，上层淡黄色液体即为血清；吸出上层液体至新的离心管中，1500 g、4°C离心10分钟，然后小心吸取上清至新的离心管中，注意切勿吸出细胞成分；
- 4) 收集到的血清可直接用于后续实验或者分装好于-80°C冰箱中保存。

**注意：**制备血浆/血清样品时，不建议使用发生溶血的血液样本。采血后应及时处理，避免剧烈晃动。

2、用本试剂盒提取的外泌体能用于哪些实验？

使用本试剂盒提取的外泌体，主要用于RNA提取及后续相关实验（如RT-qPCR、测序、芯片检测等）；RNA的提取则建议采用本公司配套的 Exosome RNA Purification Kit（Cat. No.: EZB-exo-RN1）试剂盒进行提取。使用这款试剂盒能得到高质量的RNA，且对于不同批次的样品结果更稳定。