

Exosome Protein Extraction Kit

说明书

Cat. No.: EZB-exo-PRO1

一、产品简介

Exosome Protein Extraction Kit 采用了独特的裂解液配方，能够在很短的时间内充分裂解外泌体，同时充分抑制蛋白酶的降解作用，能在 10 min 内最大限度的提取出外泌体蛋白，是外泌体研究的绝佳工具。

二、产品组分

组分	货号(规格)	EZB-exo-PRO1 (100 Preps)
Exosome Protein Extraction Buffer		35 ml

三、保存条件

本试剂盒置于 4°C 可保存 2 年，过期日期详见产品标签中有效期信息。

四、注意事项

避免蛋白酶污染：实验过程中应穿戴实验服、一次性乳胶手套和一次性口罩。实验中使用的离心管、枪头和其他用品必须不含蛋白酶。

五、操作步骤

1. 使用前，取等量的样品（如血浆、血清或细胞上清液或其他体液）提取外泌体。

【如果外泌体样品除了提取蛋白还需要提取 RNA，则可向提取好的外泌体中加入 40 μ l PBS，吹打混匀，取出 20 μ l 用于蛋白提取，其余样品用于提取 RNA（可以使用 EZB-exo-RN1 试剂盒进行提取）。】

提取的外泌体沉淀，如果全部用于提取蛋白，则按照下表直接加入对应体积的 Exosome Protein Extraction Buffer；如果部分用于提取蛋白，则按照比例加入相应体积的 Exosome Protein Extraction Buffer：

样品种类	血清/血浆	精液	卵泡液	细胞培养上清	尿液	脑脊液	肺泡灌洗液
样品体积 (ml)	1	1	1	10	10	5	10
需要加入的 Exosome Protein Extraction Buffer (μ l)	100 ~ 200			60 ~ 120			

2. 外泌体沉淀按照上述加入 Exosome Protein Extraction Buffer 后，使用旋涡振荡器 (Vortex) 剧烈振荡 30 sec，充分混匀。

3. 向下一步溶液中，加入 0.2 倍体积的 6 \times SDS 蛋白上样缓冲液（或 0.25 倍体积的 5 \times SDS 蛋白上样缓冲液），Vortex 10 sec 充分混匀。

4. 在 95°C 金属浴中加热 5 ~ 10 min。

5. 上述反应结束后，再次振荡 10 sec。

6. 提取出来的外泌体蛋白直接用于 Western Blotting 上样跑电泳，或冻存于-20°C。

六、常见问题与解决方法

1. 如何尽可能多的获取足量的外泌体蛋白用于 Western Blotting 实验？

a. 尽量增加用于外泌体提取的初始样品的用量；

b. 使用超速离心法或可靠的外泌体提取试剂盒（如 EZB-exo1、EZB-exo2 等）进行提取，确保外泌体的提取效率。

2. 如果外泌体的含量很少，如何调整外泌体蛋白提取液的用量来优化实验？

对于外泌体含量很少的样品，可以加入低至 60 μ l 的 Exosome Protein Extraction Buffer，充分振荡混匀，然后进行后续
的样品处理步骤。

3. 如果需要蛋白定量，应该如何操作？

如果提取的样品需要用于蛋白定量，则需要使用 BCA 法进行蛋白浓度测定，然后根据蛋白浓度加入一定量的 Exosome Protein Extraction Buffer 来调平蛋白浓度，加入 5 \times 或 6 \times SDS 蛋白上样缓冲液混匀后，进行样品加热变性（本试剂盒提取的样品，可通过控制初始样品量，来确保样品量相同）。