VEX™ Exosome Isolation Reagent (from cell culture media)

R601

Version 7.1

Vazyme

Vazyme biotech co., ltd.

产品概述

VEX™ Exosome Isolation Reagent(from cell culture media)是专门用于分离提取细胞培养液上清样本中外泌体的试剂，通过简单的较低速度离心即可从样本中分离出大量外泌体。本产品与传统的超高速离心相比，样本中的外泌体所受到的压力较小，可以保持较完整的形态；同时提取过程所需要的时间更短、所需要的样本起始量更低、提取效率更高。使用本产品获得的外泌体可适应于多种下游应用，如RNA分析、高通量测序、细胞共培养等。

产品组分

组　分	R601
VEX Exosome Isolation Reagent (from cell culture media)	50 ml

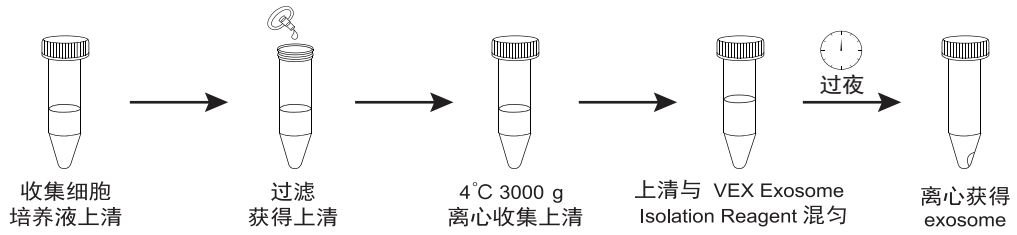
保存条件

4˚C保存。

质量控制

功能检测：以6 ml培养约48 h的HeLa细胞培养液上清为材料，进行外泌体提取，后续再提取外泌体中的RNA，以5-20 ng获得的HeLa上清外泌体中的RNA为模板，用qPCR方法检测两种small RNA表达。

实验流程



1. 细胞在正常含血清的培养基中培养一定的时间。

   a. 对于贴壁细胞，将细胞培养至密度为50%-70%左右时，去除原有含血清的培养基，换成新鲜的不含血清的培养基或不含外泌体的血清培养基继续培养。当贴壁细胞的密度达到80%-95%左右时收取上清；

   b. 对于悬浮细胞，将细胞培养至密度为50%-70%左右时，4˚C，300 g，离心10 min 收集细胞，使用不含血清的新鲜培养基或不含外泌体的血清培养基悬浮细胞并继续培养。当悬浮细胞密度达到80%-95%左右时，收集细胞及培养液混合物4˚C，300 g，离心 10 min；轻轻缓慢地吸取上清。

2. 用注射器吸取收集的上清，以0.22 μm 过滤器过滤，去除细胞碎片及细菌，过滤所得到的上清转移至新的离心管。
3. 过滤得到细胞培养液上清4˚C，3,000 g，离心 20 min，去除残留细胞碎片；轻轻缓慢地吸取上清，注意避免吸入细胞碎片。
4. 向过滤得到的上清液中加入 1/3 上清液体积的VEX Exosome Isolation Reagent (from cell culture media)。

   例如：

培养液上清体积	加入试剂体积
1 ml	0.33 ml
9 ml	3 ml

5. 轻轻颠倒混匀，至样本重新恢复均匀澄清。
6. 将装有样本的离心管垂直放入 4˚C冰箱静置过夜(约16 h)。
7. 过夜的样品4˚C，10,000 g，离心 30 min，用1 ml枪头小心吸取上清液弃去，得到外泌体沉淀*。

   * 此时的沉淀可能肉眼无法观测到。推荐使用吊篮式离心机，若使用角度固定式离心机注意标记离心管摆放方向。

8. （此步骤可选）4˚C，1,500 g，离心 2 min，完全弃去剩余上清液。
9. 离心获得的外泌体沉淀可用适量1 × PBS重悬，也可直接使用沉淀进入后续实验流程*。

   * 得到的外泌体如要保存，可在4˚C保存1周，或在−20˚C/−70˚C长期保存。

常见问题

◇本品适用的样本有什么要求？

本品适用于各种类型细胞培养液上清中外泌体的提取。为防FBS中较多的牛外泌体造成污染，可在细胞培养至50%-70%左右更换无血清培养基或者不含外泌体的血清培养基，培养约12 h后收集上清使用。也可直接使用不含外泌体的血清培养基直接培养细胞，后续直接收集细胞培养液上清进行外泌体提取。

◇一次实验需要多少体积培养液？

细胞培养液上清中外泌体的量受细胞类型、状态、数目的影响各不相同，根据实验需求决定样本起始量。

◇用固定角度的离心机离心时，为什么要标记管子的摆放方向？

一般样本中外泌体含量较少，离心后可能肉眼观察不到沉淀，标记方向后，在重悬时将1 × PBS朝离心管靠外侧的内壁反复吹打洗脱即可。

◇本品提取的exosome如何应用于下游实验？

离心后的沉淀可用100-200 μl的1 × PBS重悬后使用，也可使用下一步实验的试剂直接处理沉淀。例如，可直接使用裂解液吹打重悬沉淀后进入RNA提取流程。

企业已通过ISO 9001:2015
国际质量管理体系认证