

## 通用外泌体分离试剂盒（SEC法）

**产品货号：**BA3169

**产品规格：**3T

**产品简介：**

本试剂盒基于分子排阻色谱原理，根据被分离组分分子大小差异进行外泌体的分离。具有操作简便、高纯度和高回收率等优点，特别适用于大体积样本中的外泌体分离。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、细胞和动物功能研究等。

**适用样本类型：**

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。

**产品组成：**

产品名称	3T	保存条件
Exosome Purification Column	30ml	2-8°C，避光
Column Adapter	30ml	2-30°C，避光

**产品优势：**

1. 样本体积兼容范围广0.1-3mL样本体积都兼容。
2. 纯化外泌体纯度高 可直接用于鉴定检测或外泌体示踪和功能研究等。
3. 操作简单 重力柱模式无需专业的纯化设备，对场地设备要求少，时间短。
4. 回收率高 可自由选馏分管蛋白污染程度低，分离出的组分无蛋白污染。

**自备仪器耗材：**

高速冷冻离心机  
离心管  
废液槽/缸  
超滤管（MWCO：50kDa）  
无菌PBS（现配现用，0.2μm过滤，超声或真空脱气）  
20%乙醇（现配现用，0.2μm过滤，超声或真空脱气）  
纯化柱固定器（Purification Column）

**使用方法：**

1. 样品预处理
  - 1) 去除细胞。4°C，300g，离心5min，转移上清到新的离心管。  
注意：对无细胞的样品，可以跳过此步骤。
  - 2) 去除细胞及细胞碎片。4°C，2000g，离心10min，转移上清到新的离心管。
  - 3) 去除大体积颗粒。步骤2)得到的上清，4°C，14000g，离心30min，转移上清到新的离心管。
2. 纯化柱预处理
  - 1) 提前将纯化柱（Exosome Purification Column (30 mL)）安装在纯化柱固定器（Purification Column Stand）上，纯化柱下面放置废液槽。放置于室温 30 min 以上，恢复室温。  
注意：纯化柱需充分平衡至室温（18-25°C），温度过低或过高，都会影响外泌体分离效果。
  - 2) 检查纯化柱下端是否充满液体。如果纯化柱下端无空气，可以跳过该步骤；若纯化柱下端存在空气，将纯化柱倒置，打开下端密封帽，用移液器或注射器取水或 20%乙醇顶出空气，在密封帽中充满水或20%乙醇，再盖上密封帽，放回固定器上。
  - 3) 先打开纯化柱顶盖，再打开下端的密封帽，弃去纯化柱上的封柱液（可直接倒掉或者用移液器吸取），向纯



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**  
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

化柱中加入6mL PBS备用。将适配器（Column Adapter (30mL)）与纯化柱连接，并从顶部加入加2倍柱体积（60mL）PBS平衡纯化柱，至下方没有溶液流出。清洗过程中，纯化柱的顶部筛板必须始终保持湿润。冲洗完成后，盖上底端密封帽，断开适配器，加入3mL PBS备用。

- a. 注意要先打开纯化柱上盖，再打开下端的密封帽，否则空气将进入纯化柱中，影响外泌体分离效果。
  - b. 在整个外泌体分离纯化过程中，纯化柱的顶部筛板必须始终保持湿润，否则影响外泌体分离效果。
  - c. 需要向纯化柱中加入大体积溶液时，可以将适配器与纯化柱连接，将溶液加入到适配器中。
  - d. PBS推荐新鲜配制并经0.2 $\mu$ m滤膜过滤，或采购商业化无菌的PBS，避免微生物或颗粒物污染。PBS溶液使用前，必须平衡到室温，否则纯化柱中可能出现大量气泡，影响外泌体分离效果。
3. 分离外泌体
- 1) 样品上样。移除纯化柱中的PBS，在上方加入3mL样本；样本不足3mL，可用PBS补至3mL，混匀后上样。取下纯化柱底部密封帽，等待样本全部进入纯化柱内后，再加PBS。
    - a. 如果样品体积超过3mL，建议试用50 kDa超滤管浓缩样品至3mL，注意浓缩体积不超过20倍。超滤浓缩方法详见超滤管的说明书。
    - b. 对于高粘度样本，如血浆、血清、高粘度胸腹水等样本，可取1.5mL样本，用PBS稀释至3mL，混匀后上样。
    - c. 必须待样品全部进入筛板后，再加入PBS，避免样品被稀释影响分离效果。
  - 2) 外泌体分离。先在纯化柱下方准备好1.5mL离心管，然后在纯化柱上方加入1mL PBS。待下方收集到1mL馏分后，可加下一次1mL PBS，换新的1.5mL离心管收集。根据流出顺序分别标记馏分管编号。
  - 3) 外泌体收集。收集8、9、10、11、12号馏分管即可获取外泌体，其中9、10、11号馏分管的外泌体浓度更高。收集液可直接测定外泌体颗粒数和蛋白浓度。
  - 4) 外泌体浓缩。测定收集外泌体的颗粒浓度和蛋白浓度，根据后续实验要求，决定是否对外泌体收集液进行浓缩。如浓缩，建议使用MWCO 50kDa的超滤管，4000g离心浓缩到目的体积即可。
4. 纯化柱维护
- 1) 收集完所有馏分后，将适配器与纯化柱连接，并从顶部加入至少2倍柱体积（60mL）PBS清洗纯化柱，至下方没有溶液流出。
  - 2) 再加1.5倍柱体积（45mL）的20%乙醇清洗纯化柱，至下方没有溶液流出。
  - 3) 最后取下适配器，向纯化柱中加入5mL 20%乙醇的封闭液，安装纯化柱顶盖，然后在密封帽中充满20%乙醇，盖到纯化柱下端出口，置于4 $^{\circ}$ C直立保存。

#### 注意事项：

1. 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。
2. 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 $\mu$ m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。
3. 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 $\mu$ m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。
4. 纯化柱中间不能有气泡，使用前需认真检查，避免影响实验。
5. 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。
6. 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。

#### 保存条件：

试剂盒冰袋运输，外泌体纯化柱2-8 $^{\circ}$ C避光保存；保质期18个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com