

外泌体抽提试剂说明书

一、试剂

外泌体提取试剂 500ml

二、实验步骤

一) 外泌体抽提

- 1、取 10ml 细胞培液上清, 2000g 离心 10min,除去细胞碎片,留上清至新的 EP 管中;
- 2、按照比例:外泌体提取试剂:上清=1:4的比例,向离心好的上清中加入外泌体提取试剂,混合均匀,4度过夜;
- 3、3000g, 离心 30min, 外泌体一般会位于离心管的管壁上, 小心轻轻去掉上清 (上清留在新的管中备用), 留沉淀;
- 4、用 30ulPBS 溶液将沉淀从离心管管壁冲洗下来(冲洗 5 遍以上),以彻底重悬沉淀,即为抽提到的外泌体。

二) 外泌体用途

- 1、抽提蛋白:取 15ul 外泌体溶液,加入 15ulRIPA 裂解液,裂解后加入 1ul 蛋白 Loading buffer,取其中 10ul 进行蛋白电泳;检测蛋白 CD9、CD81、以及 CD63等;
- 2、抽提 RNA: 取 15ul 外泌体溶液,加入 100ulTrizol 试剂,进行 RNA 抽提,最后溶于 20ulDEPC 水中,无需 RNA 定量逆转,直接取相同量(2ul)进行特异性 RNA 的反转录,最后进行 qPCR 定量检测。