

Exosupur®细胞上清高倍浓缩试剂盒操作说明

Cat# ES8500 规格 500ml

一、详情

Exosupur®细胞上清高倍浓缩是一款对细胞上清样本进行快速、大通量、高倍数浓缩的产品，浓缩后的细胞上清样本可进行以分子尺寸排阻色谱法（SEC）为原理的 Exosupur®试剂盒进行外泌体的纯化。

二、组分

组分	体积*数量	保存条件	运输条件	保质期
A 液	180ml*1	2-8°C保存	常温运输	一年
B 液	80ml*1	2-8°C保存		

三、注意事项

- 1.A 液较为粘稠，使用前平衡至室温，吸取时需小心，可使用剪掉尖端的枪头或注射器吸取。
- 2.使用过程中，尽量在无菌环境开启瓶盖，减少对试剂的污染。

四、操作步骤

1. 样本准备：

收集细胞上清，300g 离心 10min 去除死细胞，3000g 离心 10min 去除细胞碎片，0.22μm 微孔滤膜过滤。

2. 样本浓缩：

(1) 按照细胞上清：A 液：B 液体积比为 7：2：1，先加入 A 液，再加入 B 液。

例如：10ml 上清中需加入 2.857ml 的 A 液和 1.428ml 的 B 液，参考下表，更大体积以此类推。

样本浓缩	细胞上清体积 (ml)	A 液 (ml)	B 液 (ml)	总体积 (ml)
范例	10	2.9	1.4	14.3
	50	14.3	7.1	71.4
50ml 离心管内最多加入量	35	10	5	50

(2) 将混合液上下颠倒混匀，4°C 静置过夜（不少于 12h）。

(3) 将混合液置于离心机 10000g 4°C 离心 60min。如果总体积大于 50ml，可以混匀后均分到



不同离心管进行离心。注意：由于离心后离心管底部的外泌体可能为透明的，所以可提前根据离心后外泌体所在大致位置进行标记，以便后续弃去上清时减少损失。

3. 样本回收：

(1) 离心后的液体自上而下小心吸去上清，若体积过大时可直接小心倾倒弃去上清液。

(2) 样本重悬：浓缩倍数 30-50 倍，第一次使用以 50ml 细胞上清加 1.25-2.5ml PBS 溶解重悬管壁的沉淀。浓缩后的样本可进行 Exosupur®外泌体分离。

五、常见问题与解决方案

1. 外泌体重悬时出现较难溶解？

出现这种情况可能是细胞上清浓度较高，浓缩倍数过大造成。建议先加入少许体积如 1ml，反复吹打尝试溶解，溶解后再补至需求体积吹打混匀，仍存在未完全溶解的现象时建议可室温静置 30min 后再次重悬，直至混匀。

2. 离心机离心力达不到 10000g？

建议离心力可以减少到 6000g 并 4°C 离心 60min。时间的减少或者离心力的降低对于回收率有一定的影响，可以根据自己样本情况，进行评估。

3. 样本浓缩只能是 30-50 倍吗？有没有具体的浓缩倍数建议

不建议浓缩倍数太高的原因是，重悬时难以溶解，另外后续 Exosupur®分离时可能会堵塞排阻柱导致流速较慢。若细胞上清较稀（颗粒或 BCA 浓度较低），可增加浓缩倍数，Exosupur®分离时上样建议颗粒浓度 $>5E+10$ particles/ml 以提高排阻收率。若想尽量简化操作，根据我们测试经验可直接浓缩 30 倍。

4. 浓缩后的样本直接按照 Exosupur®说明书进行操作吗？

外泌体纯化部分完全按照 Exosupur®说明书操作进行。纯化出来的外泌体在进行超滤浓缩时建议用 PBS 清洗 2 遍，即 Exosupur®收集到的馏分转移至超滤管先浓缩到所需体积，然后再补 PBS 至 4ml，吹打外泌体进行清洗，4000g 离心，可重复清洗 2 次，最后离心至所需体积（离心时间根据样本浓度而异，一般 5-10min）。

该产品仅供科研使用。在使用本产品时遇到任何问题，欢迎邮件咨询：techservice@ecbobitech.com

