

EasySep™人总细胞外囊泡正选试剂盒

可处理 20 mL 生物液体样本

产品号 #17891

正选

文档号 #1000035744 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠正选从血浆、血清、条件培养基和尿液中分离人总细胞外囊泡 (EVs)。

- 操作简单、快速
- 无需分离柱

该试剂盒使用识别特异性四跨膜蛋白标志物CD9、CD63和CD81的抗体来正选EV。目的EV用抗体和磁珠标记,并通过EasySep™磁极进行无柱分选。不需要的生物液体组分通过简单倾倒弃去,而所需的EVs则保留在试管中。最终分离的组分中含有高纯度的EVs,可立即用于下游应用,例如DNA/RNA提取、western blot或质谱分析。

正选后**不建议解离磁珠**, EVs在解离磁珠后仍与抗体复合物结合。与EVs结合的抗体复合物和磁珠可能会与Billiant Violet™偶联抗体、聚乙二醇修饰蛋白或其他化学相关配体相互作用。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™人总细胞外囊泡正选抗体混合物	17891C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ Releasable RapidSpheres™ 50201	50201	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存。 勿冷冻。	具体效期请见标签	保存在水中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温 (15 - 25°C) 下运输, 但应按照上述说明进行储存。

样本制备

有关可用的冻存样本, 请参见 www.stemcell.com/primarycells。

血浆 (来自全血)

1. 将全血以2000 x g 离心10分钟。吸取血浆层并转移至锥形管 (如: 产品号 #38009/38010)。
2. 将步骤1得到的血浆层以2000 x g 离心10分钟。吸取血浆上清液并转移至新的锥形管中。
3. 血浆上清液以10,000 x g 离心30分钟, 以去除细胞碎片和大囊泡。吸取血浆上清液并转移至所需的试管或孔板中 (参见表1 - 2)。
可选: 如需要, 可以在分选EVs之前使用0.2 µm 过滤器过滤血浆。

对于其他生物液体 (尿液除外), 请按照条件培养基的处理方法 (步骤 2 - 3) 去除细胞和大囊泡。

条件培养基

1. 收集条件培养基并转移至锥形管 (如: 产品号 #38009/38010)。
2. 将条件培养基以2000 x g 离心10分钟。吸取上清液并转移至新的锥形管中。
3. 将上清液以10,000 x g 离心30分钟。吸取上清液并转移至所需的试管或孔板中 (参见表1 - 2)。
4. 可选: 如果使用稀释的样本, 请使用30K 或100K 离心过滤管 (如: PALL 产品号 #MAP030C36/MAP100C36) 进行浓缩。
5. 可选: 如需要, 可以在分选EVs之前使用0.2 µm 过滤器过滤上清液。

尿液

如果使用冻存的尿液, 请在样本处理之前完全解冻。

1. 涡旋尿液以得到均匀的悬液。
2. 将尿液在室温 (15 - 25°C) 下以1000 x g 离心10分钟。吸取上清液并转移至新的试管中。

注: 对于新鲜尿液, 建议添加蛋白酶抑制剂以防止蛋白降解。

注: 如不立即使用, 请将尿液冷冻在 -20°C 以长期保存。

3. 可选（推荐）：将上清液在室温下以10,000 x g 离心30分钟，以预纯化样本。

注：此步骤可减少 THP 污染，但可能会降低最终的EV回收率。

4. 对于 ≤ 2 mL 的样本，吸取上清液并转移至所需的试管或孔板中（参见表 1 - 2），或者

对于 > 2 - 20 mL 的样本，将尿液转移至100K 离心过滤管以浓缩样本。在室温下，以1000 x g 离心30分钟。收集滤膜上方浓缩的部分并转移至所需的试管中（参见表 1）。用推荐缓冲液定容至1 mL。

推荐缓冲液

D - PBS（不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺；产品号 #37350）

使用指南 – EasySep™ 手动实验流程

请参阅第1页和第2页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™人总细胞外囊泡正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EASYSEPTM 磁极	
		 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	将样本添加到所需的试管中。	≤ 0.5 - 2 mL	1 - 8 mL
	所需的试管。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意: 不要滴旋抗体混合物。	如样本 ≥ 0.5 mL, 加入50 µL/mL 样本 注: 如样本 < 0.5 mL, 加入25 µL 抗体混合物	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟 或 对于浓缩的尿液样本, 室温孵育30分钟	室温孵育10分钟 或 对于浓缩的尿液样本, 室温孵育30分钟
3	涡旋Releasable RapidSpheres™。 注意: 磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	30 秒
4	将Releasable RapidSpheres™ 加到样本中。	如样本 ≥ 0.5 mL, 加入100 µL/mL 注: 如样本 < 0.5 mL, 加入50 µL 磁珠	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟 或 对于浓缩的尿液样本, 室温孵育30分钟	室温孵育10分钟 或 对于浓缩的尿液样本, 室温孵育30分钟
5	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 4 mL, 定容至 5 mL ●若样本 ≥ 4 mL, 定容至 10 mL
	将试管 (不加盖) 放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
6	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾倒入上清液。注意: 倾倒入后请勿将试管从磁极中取出。直接进行后续分选步骤。	弃去上清液	弃去上清液
7	添加推荐的缓冲液, 将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> ●若样本 < 4 mL, 定容至 5 mL ●若样本 ≥ 4 mL, 定容至 10 mL
	孵育。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
8	拿起磁极, 以一个连续的动作翻转磁极和试管*, 倾倒入上清液。注意: 倾倒入后请勿将试管从磁极中取出。直接进行后续分选步骤。	弃去上清液 注: 如果起始样本是条件培养基, 请跳至步骤10	弃去上清液 注: 如果起始样本是条件培养基, 请跳至步骤10。
9	重复以上步骤。	重复两次步骤7和8 (总共进行1次5分钟和3次1分钟的分选)	重复两次步骤7和8 (总共进行1次5分钟和3次1分钟的分选)
10	从磁极中取出试管。将EV重悬于所需培养基中。请确保从试管壁上收集EVs。	分选后的EVs可立即用于下游应用	分选后的EVs可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

* 保持磁极和流式管倒置 2 - 3秒, 然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™人总细胞外囊泡正选试剂盒操作流程

步骤	说明	EasyPlate™ (产品号 #18102)	
1	将样本添加到所需的96孔板中。	0.2 mL	
2	在样本中加入分选抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本 注：如样本 < 0.2 mL，添加10 µL 抗体混合物	
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟 或 对于浓缩的尿液样本，室温孵育30分钟	
3	涡旋振荡RapidSpheres™。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30 秒	
4	将Releasable RapidSpheres™ 加到样本中。	100 µL/mL 样本 注：如样本 < 0.2 mL，加入20 µL RapidSpheres™	
	混匀并孵育。	室温孵育10分钟 或 对于浓缩的尿液样本，室温孵育30分钟	
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至0.2 mL	
	将孔板（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	
6	小心地吸取（切勿倾倒）上清液。 注意：请勿将孔板从磁极中取出，直接进行后续分选步骤。	弃去上清液	
7	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至0.2 mL	
	孵育。	室温孵育1分钟	
8	小心地吸取（切勿倾倒）上清液。 注意：请勿将孔板从磁极中取出，直接进行后续分选步骤。	弃去上清液 注：如果起始样本是条件培养基，请跳至步骤10	
9	重复以上步骤。	重复两次步骤7和8 (总共进行1次5分钟和3次1分钟的分选)	
10	从磁极中取出孔板，将EVs重悬于所需培养基中。	分选后的EV可立即用于下游应用	

RT - 室温 (15 - 25°C)

注意事项和提示

若要通过western blot免疫染色评估CD9、CD63和CD81四跨膜蛋白标志物表达，请使用细胞外囊泡人CD9/CD63/CD81抗体组合（产品号 #100-0211）或以下抗体克隆号：

- 抗人CD9抗体，克隆号HI9A（产品号 #100-0138），以及
- 抗人CD63抗体，克隆号H5C6（产品号 #100-0139），以及
- 抗人CD81（TAPA-1）抗体，克隆号5A6（产品号 #100-0209）

有关更多信息，请访问www.stemcell.com查看实验方法：如何通过Western Blotting鉴定细胞外囊泡。

生物液体样本间差异

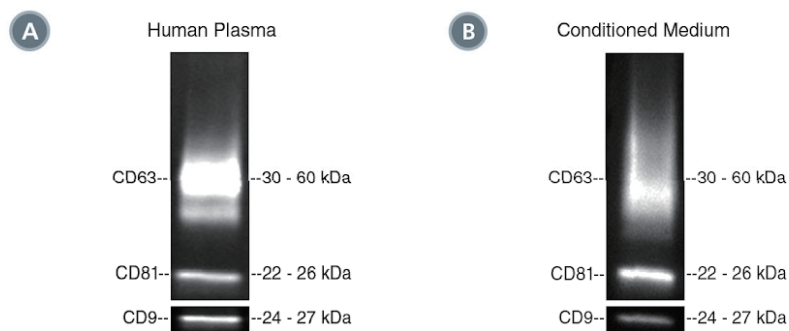
不同生物液体样本（包括相同类型的不同样本和不同类型样本）中EVs上表达的四跨膜蛋白类型和表达量可能不同。这可能会影响后续四跨膜蛋白的得率与数据分析。

优化回收率

如需提高EV回收率，请使用以下方法之一：

- 将分选抗体混合物的孵育时间增加至30分钟，和/或
- 加入双倍的分选抗体混合物和 RapidSpheres™
注：两个组分的用量必须同时增加。
- 对于 < 2 mL的样本，建议使用EasySep™ 磁极（产品号 #18000）。

实验数据



上述示例中采用了western blot分析了从(A) 人血浆和(B) 条件培养基中通过正选分离出表达CD9、CD63和CD81四跨膜蛋白标志物的EVs。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasySep、EasyPlate和RapidSpheres均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的商标。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。