



外泌体提取实验报告

一、实验器材及试剂

1、主要实验器材及耗材

名称	厂家	货号
1.5ml 离心管	科兔生物	KTL-15-P
15ml 螺盖普通离心管	科兔生物	KTL-150-P
50 ml 离心管	科兔生物	KTL-500-P
一次性使用无菌注射器	宏宇五洲	5mL
一次性使用无菌注射器	宏宇五洲	1mL
纳米颗粒跟踪分析仪	Particle Metrix	ZETA-VIEW
T25 培养瓶	科兔生物	KTP-25-T
一次性针头式滤器(PVDF 膜) 0.22um	Solarbio	SLGVR33RB
洁净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
胰酶	科兔生物	RG-CE-18
PBS 缓冲液	科兔生物	RG-RT-01
DMEM 培养基	科兔生物	RG-CE-2
血清	科兔生物	CG-SR-02
立式冷藏柜	海尔	SC-332
台式高速冷冻离心机	湖南恒诺仪器设备有限公司	2-16R
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
细胞培养箱	Thermo	4131
电热恒温水浴锅	恩谊	HH-48
高速冷冻离心机	Beckman	Avanti JXN-26

2、主要实验试剂

试剂	厂家	货号
PBS 缓冲液	安徽科兔生物科技有限公司	RG-RT-01
胰酶	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-18
血清	安徽科兔生物科技有限公司	CG-SR-02
DMEM 培养基	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-2



二、核蛋白提取详细实验步骤

二、外泌体差速离心实验步骤

1、**细胞培养**:将状态良好的细胞接种于 15 cm 的细胞培养皿中,加入含 10 % FBS 的 DMEM 高糖细胞培养基,置于 37 °C 5% CO₂ 的环境下培养;

2、样本准备:

a. 待细胞长到 70 %汇合度左右,用 PBS 清洗 1-2 次,更换细胞培养基(含血清或者不含),孵化 2-3 天,收集 70 ml 细胞培养上清用于外泌体提取;

b. 收集血清样品 10ml,用 PBS 稀释至 70 ml 用于外泌体提取;

3、**低速离心**:将样本加入 50 ml 离心管中,2000 g 离心 15min,收集上清;

4、**高速离心**:将样本于高速冷冻离心机中 4 °C 10000 g,离心 30 min,收集上清;

5、**过滤膜**:将 0.22 μm 针式滤器用 PBS 润湿后,过滤之前离心好的样本上清;

6、超速离心:

a. 将过滤后的样本,转移到 Himac 超速离心机专用超离管中,4 °C,离心 90min,去除上清,用 PBS 重悬沉淀;

b. 再一次 4 °C,离心 90 min,收集 200 ul 离心后上清作为阴性对照,多余部分上清全部去除;用 160 ul 左右 PBS 重悬外泌体沉淀。

仅供科研用途,不可用于临床诊断!