

外泌体分离试剂盒

# CATAROSEV™

[\[Code No. CTS-001, CTS-001T, CTS-011\]](#)

使用说明书

TOYOBO CO., LTD.

Bioproducts Sales and Marketing Department

OSAKA JAPAN

**TOYOBO**



- 目录 -

[1] 简介	1
[2] 产品详情	2
[3] 额外需要的材料	2
[4] 操作步骤	3
[5] 使用及注意事项	6
[6] 常见问题排查	7

---

注意

---

- 本试剂盒仅供研究使用，严禁用于食品或化妆品。
- 使用本试剂盒时，请严格遵守一般实验室安全规范，并参考 SDS (安全数据表) 了解安全信息。
- 根据样品状况 (如培养基成分、培养条件等)，可能不适合进行纯化。如果使用珍贵样品，请在使用前先用相同细胞和性质的样品进行测试。在相关实验中，可能会接触危险化学品。请遵守各试剂附带的安全注意事项以及设备和仪器提供的使用说明，并根据需要佩戴适当的防护装备。

\*本文件中列出的公司名称、产品名称、标志等均为各公司的商号、商标或注册商标。

# [1] 简介

本试剂盒利用外泌体的大小和电荷特性，从样品中分离和纯化外泌体。

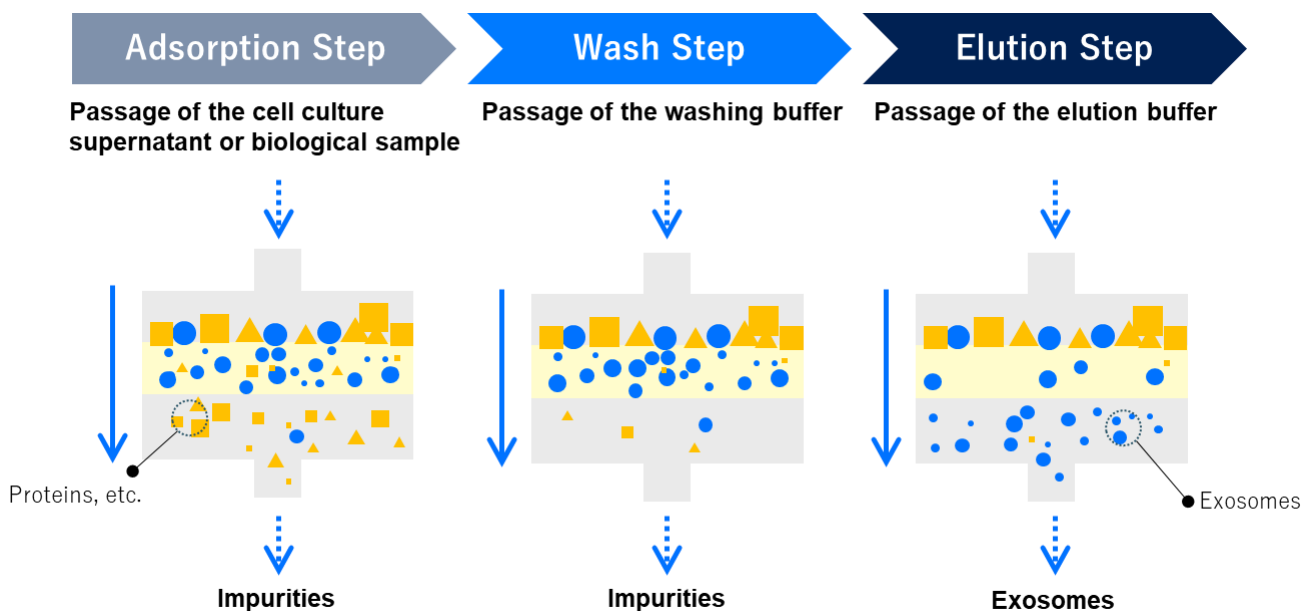
## [特点]

- 无需复杂的前处理步骤（如样品浓缩）和昂贵的设备。
- 通过简单的吸附、洗涤和洗脱三步过程，可在短时间内纯化和回收外泌体。
- 操作简便，可实现高效率回收。

**【吸附步骤】** 利用外泌体表面的电荷，将外泌体吸附到膜上。

**【洗涤步骤】** 去除不带电荷的杂质。

**【洗脱步骤】** 使用高盐缓冲液收集吸附在膜上的外泌体。



## [2] 产品详情

本产品包含以下组件。

### CATAROSEV™外泌体分离试剂盒

	CTS-001	CTS-001T
1. 注射过滤器（离子交换膜）	5 sets	1 set
2. 三通旋塞阀	5 sets	1 set

储存条件：

冷藏保存。本试剂盒可在室温下保存长达 3 个月

## [3] 额外需要的材料

除本产品外，每次纯化请准备以下试剂和设备。

### 1. 含细胞外囊泡的样品

- 细胞培养上清液：推荐用量：10-15mL
- 血浆/血清：推荐用量：100-200 $\mu$ L

请根据样品试剂情况调整测试体积

### 2. 20mL注射器 × 4 支

(推荐：Terumo® Syringe SS-20LZ/ Terumo Corporation)

### 3. 收集管 5mL × 1支

(推荐：Protein LoBind® Tubes, 5.0mL, Cat. No. 0030108302, Eppendorf Co., Ltd.)

注意：建议使用低蛋白结合管。

### 4. 防护设备（防护眼镜、防护手套等）

### 5. 台式离心机、离心管

### 6. 缓冲液（单独销售，请按需购买）

- 盐浓度调整缓冲液 × 20mL
- 平衡/洗涤缓冲液 × 20mL

· 洗脱缓冲液 × 20mL

注意：缓冲液配方如下：

	5mol/L NaCl	1mol/L Tris-HCl buffer solution (pH 7.6)	纯水
盐浓度调整缓冲液（盐浓度 0M）	0 vol%	1 vol%	99 vol%
平衡/洗涤缓冲液（盐浓度0.1M）	2 vol%	1 vol%	97 vol%
洗脱缓冲液（盐浓度0.3M）	6 vol%	1 vol%	93 vol%

注意：可以使用 HEPES 替代 Tris，不会出现任何问题。同样，pH 7.5 也可以替代 pH 7.6。

注意：本公司提供单独销售的缓冲液套装（可用5次纯化，见下表），如有需要请联系业务员进行购买。

产品名	Code No.	Volume
Buffer Set for CATAROSEV™	CTS-011	盐浓度调整缓冲液 × 100mL 平衡/洗涤缓冲液 × 100mL 洗脱缓冲液 × 100mL

## [4] 操作步骤

### 1. 样本准备

(1) 准备含细胞外囊泡的样本。

对于培养上清液

根据需要（推荐 0.45μm 过滤器）进行粗过滤。

用盐浓度调整缓冲液，将样本（10-15mL）稀释至盐浓度约为 0.1 M（0.6 wt%）。\*1-1 \*1-2

\*1-1 高盐浓度可能导致外泌体回收率降低。

\*1-2 低盐浓度可能导致杂质污染。

### B. 对于血浆或血清

室温下以 10,000×g 离心 5 分钟，收集上清液。

用平衡/洗涤缓冲液将收集的上清液（100-200μL）至少稀释 50 倍。\*1-3

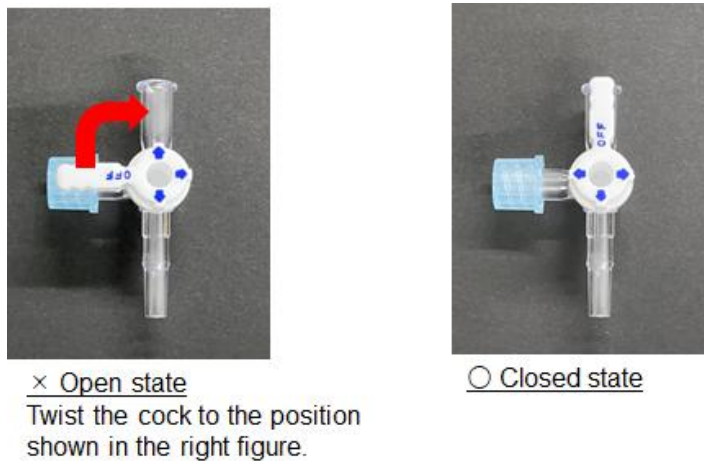
\*1-3 稀释倍数过低可能导致通过不均匀和颗粒回收率降低。

## 2. 膜平衡

- (1) 打开注射器、过滤器和三通旋塞阀的包装。
- (2) 将 5mL 平衡/洗涤缓冲液装入注射器，并将其连接到注射过滤器上。



- (3) 将注射过滤器的出口朝下，缓慢推动注射器活塞，使平衡/洗涤缓冲液流入并从出口流出。此步骤请注意不要让空气进入注射过滤器。 \*2-1
- (4) 确认三通旋塞阀处于关闭位置，然后连接旋塞阀。 \*2-2



- (5) 从注射过滤器上取下注射器。

## 3. 吸附步骤

- (1) 将"1. 样本准备"中准备的全部样品吸入注射器，并将注射器连接到注射过滤器上。如果样品体积超过注射器容量，请重复步骤 3（吸附步骤）。
- (2) 取下三通旋塞阀。

- (3) 将注射过滤器的出口朝下，缓慢推动注射器活塞，使样品流入并从出口流出。此步骤请注意不要让空气进入注射过滤器。<sup>\*2-1</sup>
- (4) 确认三通旋塞阀处于关闭位置，然后连接旋塞阀。<sup>\*2-2</sup>
- (5) 从注射过滤器上取下注射器。

#### 4. 洗涤步骤

- (1) 将 10mL 平衡/洗涤缓冲液装入注射器，并将注射器连接到注射过滤器上。
- (2) 取下三通旋塞阀。
- (3) 将注射过滤器的出口朝下，缓慢推动注射器活塞，使平衡/洗涤缓冲液流入并从出口流出。此步骤请注意不要让空气进入注射过滤器。<sup>\*2-1</sup>
- (4) 确认三通旋塞阀处于关闭位置，然后连接旋塞阀。<sup>\*2-2</sup>
- (5) 从注射过滤器上取下注射器。

#### 5. 洗脱步骤

- (1) 准备收集管。
- (2) 将 2mL 洗脱缓冲液装入注射器，并将注射器连接到注射过滤器上。
- (3) 取下三通旋塞阀。
- (4) 将注射过滤器的出口朝下，缓慢推动注射器活塞，使缓冲液通过过滤器，并收集洗脱液。<sup>\*2-3</sup>
- (5) 丢弃本试剂盒，注意不要让洗脱液滴落。<sup>\*2-4</sup>

---

\*2-1 如果空气进入注射过滤器，由于气体滞留可能无法实现适当的回收。

\*2-2 如果在三通旋塞阀打开的情况下更换注射器，由于气体滞留可能无法实现适当的回收。

\*2-3 收集样品的盐浓度将约为 0.25 M。如有必要，使用盐浓度调整缓冲液进行调整。

\*2-4 本试剂盒仅供单次使用。请勿重复使用或清洁后再次使用。

## [5] 使用和处理注意事项

### 1. 操作注意事项

- (1) 处理含细胞外囊泡的样品时，请根据感染等级在生物安全柜中操作，佩戴适当的防护设备，如安全眼镜、口罩、一次性手套和实验服，并注意不要让囊雾吸入或接触身体。
- (2) 处理感染性样品时，请小心操作并遵守各机构的安全管理规定。
- (3) 如果缓冲液或含细胞外囊泡的样品意外接触眼睛或口腔，请立即用水彻底冲洗作为急救措施，并就医。
- (4) 如果缓冲液或含细胞外囊泡的样品意外接触皮肤，请立即用大量水冲洗。
- (5) 如果含缓冲液或含细胞外囊泡样品的溶液溢出，请佩戴手套和口罩，并用乙醇等消毒剂彻底擦拭。

### 2. 使用须知

- (1) 请使用专用的注射过滤器和三通旋塞阀，不要将其用于其他目的。
- (2) 请务必按照储存说明储存注射过滤器和三通旋塞阀。请勿使用在指定条件以外储存或已过期的注射过滤器或三通旋塞阀。开封后，无论保质期如何，请尽快使用。
- (3) 请使用锁定型 (Luer-Lock) 注射器。如果使用滑动型 (Slip Tip)，可能会脱落导致液体溅出。
- (4) 不要混用不同批次的缓冲液。
- (5) 使用缓冲液后，请务必关闭阀门，防止干燥。
- (6) 请特别注意避免注射过滤器、三通旋塞阀和缓冲液被污染，因为它们可能因杂质的引入而改变性能。
- (7) 请勿震荡或敲击注射过滤器或三通旋塞阀。强烈冲击可能导致其破裂。
- (8) 组装、拆卸或操作注射过滤器、三通旋塞阀或注射器时，请勿用力过猛。
- (9) 如果注射过滤器、三通旋塞阀或注射器有划痕或裂纹，请立即更换为新的。如果注射过滤器、三通旋塞阀或注射器损坏，请注意不要触摸损坏部位以免手指受伤，并立即丢弃。

### 3. 废弃注意事项

- (1) 废弃使用过的试剂盒、缓冲液或相关材料时，请根据处理的样品类型进行适当的废弃处理。请委托专业的废弃物处理服务提供商，并遵守《废弃物处理及清扫法》及所有相关法规。
- (2) 处理感染性样品时，请按照有关感染性废弃物的规定废弃本试剂盒、洗涤样品和收集的样品。

## [6] 常见问题排查

现象	原因	对策
外泌体回收率低	待纯化样品中的外泌体含量低	推荐的样品颗粒数为 $150 \times 10^8$ 颗粒以上。请检查样品中的颗粒数是否极低。
	待纯化样品中含有大量大颗粒	如果样品中有许多大颗粒，它们可能积聚在过滤器表面并导致堵塞。请通过 $0.45\mu\text{m}$ 过滤器过滤样品或以 $10,000 \times g$ 离心 5 分钟去除粗大颗粒，然后进行纯化。
	待纯化样品的盐浓度过高	如果样品的盐浓度高，外泌体可能无法吸附到膜上，并可能在洗涤步骤中丢失。推荐的样品电导率为 8-11 mS/cm。如果电导率极高，请考虑调整盐浓度。
	待纯化样品中含有大量气泡	如果使用含有大量气泡的样品，空气可能被滞留，导致回收率降低。如果使用搅拌时容易产生气泡的样品，请在纯化前静置样品以去除气泡。
	操作过程中有空气被滞留	如果在三通旋塞阀打开或未连接三通旋塞阀的情况下更换注射器，空气可能被滞留，回收体积可能减少。请检查操作程序是否有问题。
	使用了不同盐浓度的缓冲液	如果平衡/洗涤缓冲液的盐浓度高，或洗脱缓冲液的盐浓度低，回收率可能降低。请检查是否使用适当盐浓度的缓冲液。
	通过的洗脱缓冲液体积过低	如果通过的洗脱缓冲液体积过小，可能无法实现充分回收。请通过适当体积的洗脱缓冲液。
	样品液体温度过高	如果液体温度高，回收率可能降低。请在室温 ( $25^\circ\text{C}$ ) 或更低温度下操作。
	纯化回收产物储存过程中发生颗粒损失	如果纯化后需要长期储存，请将纯化样品冷藏保存。
	纯化回收管吸附导致损失	请使用低蛋白吸附的容器。
纯化样品含有大量污染蛋白	洗涤不充分	检查使用的洗涤缓冲液体积是否正确，并用适当体积的洗涤缓冲液洗涤。
	发生污染	如果重复使用已用于待纯化样品的注射器，可能有粘附在注射器上的污染蛋白导致污染的风险。请在洗涤和洗脱步骤中使用新的注射器。
	待纯化样品的盐浓度过低	如果样品的盐浓度低，可能有外泌体以外的杂质被共提取到洗脱液中。推荐的样品电导率为 8-11 mS/cm。如果电导率极低，请考虑调整盐浓度。
缓冲液无法通过	待纯化样品中含有大量大颗粒	如果样品中有许多大颗粒，它们可能积聚在过滤器表面并导致堵塞。请通过 $0.45\mu\text{m}$ 过滤器过滤样品或以 $10,000 \times g$ 离心 5 分钟去除粗大颗粒，然后进行纯化。

待纯化样品中含有大量气泡	如果使用含有大量气泡的样品，空气可能被滞留。如果使用搅拌等容易产生气泡的样品，请在纯化前静置样品以去除气泡。
操作过程中有空气被滞留	如果在三通旋塞阀打开或未连接三通旋塞阀的情况下更换注射器，空气可能被滞留，回收体积可能减少。请检查操作程序是否有问题。

# TOYOBO

[制造 · 销售商]

**东洋纺（上海）生物科技有限公司**

交货期限 · 订货 · 产品内容 · 技术相关咨询

Tel:[021-5879-4900](tel:021-5879-4900) Fax:021-5879-4901

E-Mail:[tech@bio-toyobo.cn](mailto:tech@bio-toyobo.cn)

<http://www.bio-toyobo.cn>