

使用离心机进行外泌体 (Exosome) 分离纯化的标准方法

目前外泌体研究是非常热门的课题，主要原因是外泌体在细胞内的信号传导中起到了重要的作用，故外泌体可以用于预诊断，治疗，及作为生物标记物。外泌体是细胞衍生的膜泡，其由脂质双层形成，从细胞分泌出来，大小在20-200nm 之间，呈现于唾液，血液，尿，羊水，等体液内。本文将介绍使用离心机进行分离纯化的标准方法：

1. 首先使用差分离心进行粗纯化，步骤如下：

- 1) . 收集细胞上清液或体液，在低离心力下进行离心 (300-500xg)，离心约 10 分钟，除去细胞沉淀，将上清转到另一个离心管中
- 2) . 增加离心力，2000-5000xg, 离心 10 分钟，进一步除去细胞沉淀，收取上清到新的离心管
- 3) . 增加离心力，在 10000xg 下将前面收集的上清进行离心，约 1 小时，收取沉淀，则为粗纯化的外泌体

上述步骤可使用日立高速冷冻离心机 CR21N 或 CR22N, 及不同容量的转头进行离心 (如 R10A3 转头)：



CR22N

(最高转速 22000rpm, 最大容量 6L)



R10A3 (最高转速 10000rpm, 最大容量 500mlx6)

2. 密度梯度离心进行外泌体的进一步纯化：

将上述粗纯化的外泌体加入碘克沙醇 (iodixanol) 进行进一步纯化。步骤如下：

步骤 1：使用碘克沙醇进行密度梯度离心来纯化外泌体

天美(中国)科学仪器有限公司
北京市朝阳区天畅园7号楼(100107)

t 010-64010651

f 010-64060202

e techcomp@techcomp.cn

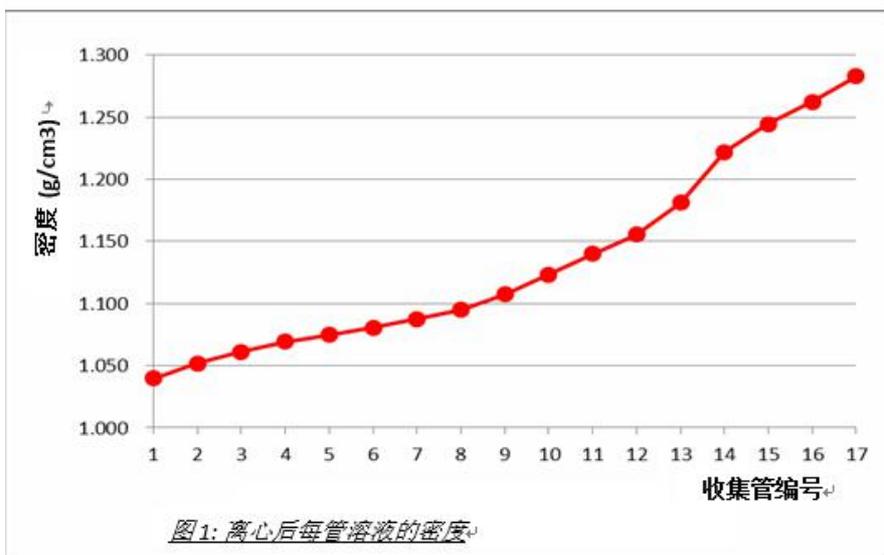
w www.techcomp.cn



步骤 2 分馏收集溶液并进行密度测试：

离心分离后, 每 2ml 溶液进行分布收集成 17 个样品管, 并对每管溶液进行屈光计检测. 根据每管溶液的屈光值进行密度计算.

图 1. 显示离心后每管溶液计算的密度值



步骤 3. 确定含有外泌体的收集管：

外泌体应该存在于密度在 115-119g/cm³ 的收集管，所以大概可以确定收集管#12 和 13 是纯化的外泌体。



图 2 : 使用 iodixanol 后离心的状态

步骤 4 清洗外泌体并保存：

使用 PBS 清洗外泌体并保存在 4°C

Reference : "[Exosome Analysis Master Lesson](#)" published from YODOSHA CO., LTD. in 2014

如有任何问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司