

产品编号:294-85701

研究用试剂

EV-Perm™ 外泌体膜渗透处理用试剂盒

【产品信息】

产品编号	产品名称	产品规格	储存条件
294-85701	EV-Perm™ Permeabilization Pretreatment Kit for Exosome Membrane EV-Perm™ 外泌体膜渗透处理用试剂盒	1 Kit	冷冻 (-20℃)

【试剂盒组成】

组成产品	规格	储存条件
Reagent A (20×)	500 μL×1 管	冷冻 (-20℃)
Reagent B (10×)	500 μL×1 管	解冻前: 冷冻 (-20℃) 解冻后: 冷藏 (2~10℃)
Reagent C (100×)	500 μL×1 管	解冻前: 冷冻 (-20℃) 解冻后: 冷藏 (2~10℃)

【本产品的储存方法】

请按照上述条件储存各试剂。

分装产品时各试剂的储存方法

1. Reagent A (20×)

解冻后, 轻弹混合, 并迅速按照所需量进行分装。剩余溶液盖紧瓶盖后, 需立即冷冻 (-20℃) 储存。

- 长时间以液态存储, 成分可能会产生沉淀。
- 如观察到沉淀, 请在60℃条件下加热约30 min, 待沉淀溶解后冷冻储存。

2. Reagent B (10×) 及 Reagent C (100×)

解冻后, 轻弹混合, 并迅速按照所需量进行分装。剩余溶液盖紧瓶盖后, 冷藏 (2~10℃) 储存。

【关于本产品】

本产品是一款可检测细胞外囊泡内部标志物的试剂。至今研发的 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒系列和 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒的检测对象仅限于细胞外囊泡的表面标志物。但通过配合使用本产品, 即可提高细胞外囊泡表面的渗透性, 检测出内部的标志物。

配合使用PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒

【除本产品之外需要准备的物品】

请按照上述条件储存各试剂。

① ELISA试剂盒 (□为确认框)

☐ 下列任一款试剂盒

产品编号	产品名称
297-79201	PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD) PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒 (抗小鼠IgG POD)
298-80601	PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Streptavidin HRP) PS Capture™ 外泌体ELISA Kit (链霉亲和素HRP)

② 试剂明细 (□为确认框)

☐ 纯净水(蒸馏水)

☐ 特定细胞外囊泡的内部标志物检测抗体

使用PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒 (抗小鼠IgG POD) 时, 请准备小鼠单克隆抗体;
使用PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒 (链霉亲和素HRP) 时, 请准备生物素标记抗体。

③ PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒包括以下试剂

☐ 洗涤缓冲液 (10×)

☐ 外泌体结合增强子 (100×)

☐ 反应缓冲液

请使用 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒中配套的外泌体结合增强子和反应缓冲液。使用缓冲液于本试剂盒, 并不会导致用于 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒中的缓冲液不足。

④ 器具明细 (□为确认框)

☐ 微孔板 (PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒配套器材)

☐ 封板膜 (PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒配套器材)

☐ 微孔板摇床

【细胞外囊泡样品的准备】

使用 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒 (抗小鼠 IgG POD) 时

使用本产品检测目标标志物时，必须对细胞外囊泡的浓度进行优化。细胞外囊泡的最佳浓度为使用 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒 (抗小鼠 IgG POD) 进行检测，检测结果吸光度 (450 nm 的吸光度减去 620 nm 的吸光度) 范围在 0.2~2.5 之间。为了调整细胞外囊泡的浓度，请使用试剂盒配套的反应 / 洗涤液 (1×) 进行稀释。

使用 PS Capture™ 外泌体 ELISA Kit (链霉亲和素 HRP) 时

使用本产品检测目标标志物时，必须对细胞外囊泡的浓度进行优化。细胞外囊泡的最佳浓度为使用 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒 (链霉亲和素 HRP) 进行检测，检测结果吸光度 (450 nm 的吸光度减去 620 nm 的吸光度) 范围在 0.2~2.5 之间。为了调整细胞外囊泡的浓度，请使用试剂盒配套的反应缓冲液进行 2 倍以上的稀释。

【试剂的准备】

1. 制备渗透处理液

请参考下方表1稀释各试剂，并充分混匀。

表1. 各试剂的稀释倍数和制备渗透处理液的各试剂所需添加量

试剂名称	稀释比例	12份样品 [※] (24孔)	24份样品 [※] (48孔)	48份样品 [※] (96孔)
纯净水 (蒸馏水)	-	2.1 mL	4.2 mL	8.4 mL
Reagent A (20×)	1:20	125 μL	250 μL	500 μL
Reagent B (10×)	1:10	250 μL	500 μL	1.0 mL
Reagent C (100×)	1:100	25 μL	50 μL	100 μL
Total	-	2.5 mL	5.0 mL	10.0 mL

※ 假设n=2进行ELISA时的试剂添加量。

2. 阴性对照溶液的制备

请参考下方表2稀释各试剂，并充分混匀。
(制备阴性对照溶液无需添加Reagent A)

表2. 各试剂的稀释倍数和制备阴性对照溶液的各试剂所需添加量

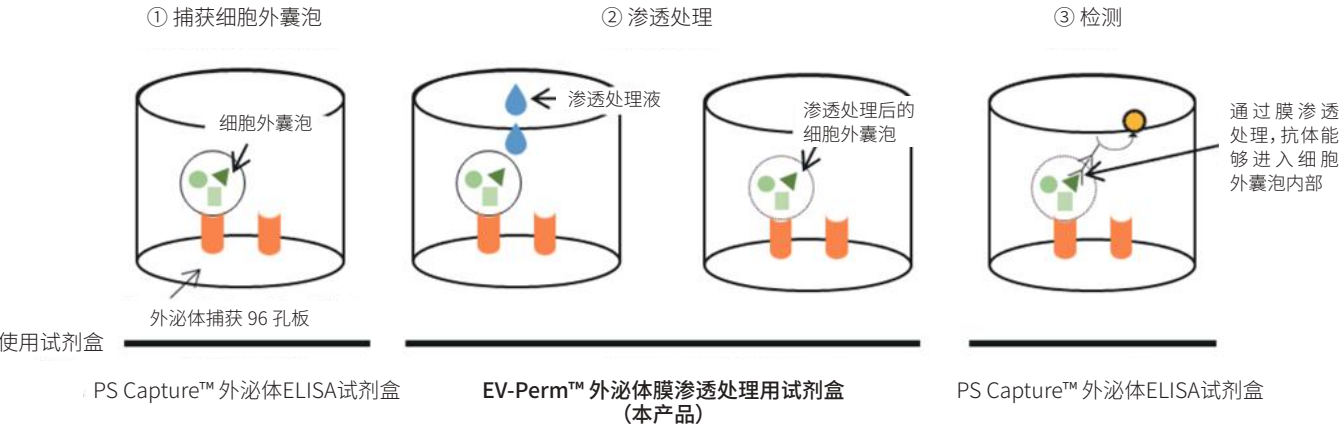
试剂名称	稀释比例	12份样品 [※] (24孔)	24份样品 [※] (48孔)	48份样品 [※] (96孔)
纯净水 (蒸馏水)	-	2.2 mL	4.5 mL	8.9 mL
Reagent B (10×)	1:10	250 μL	500 μL	1.0 mL
Reagent C (100×)	1:100	25 μL	50 μL	100 μL
Total	-	2.5 mL	5.0 mL	10.0 mL

※ 假设n=2进行ELISA时的试剂添加量。

3. 制备洗涤液 (1×)

使用纯净水稀释 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒中配套的洗涤缓冲液 (10×) 10 倍，然后添加 1/100 的外泌体结合增强子 (100×) 到稀释溶液，并充分混匀。

【反应流程图】



【操作步骤】

1. 处理流程

步骤			使用试剂和仪器	时间
1	捕获细胞外囊泡 (准备渗透处理对象样品)	清洗微孔板	洗涤液 (1×)	>2 h
		微孔板捕获细胞外囊泡	样本捕获 反应缓冲液 (1×)	
		清洗	洗涤液 (1×)	
2	渗透处理 (使用本试剂盒)	渗透处理※	① 渗透处理液 ② 阴性对照溶液	>1 h
		洗涤	洗涤液 (1×)	

※ 每个样本分别进行渗透处理液和阴性对照溶液处理, 在渗透处理的条件下进行检测。

接下来步骤依据PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒进行。

步骤			使用试剂或仪器	时间
3	一抗反应	一抗反应	检测抗体	1 h
		清洗微孔板	洗涤液（1×）	
4	二抗反应/HRP标记链霉亲和素反应	二抗反应/HRP标记链霉亲和素反应	二抗反应液或HRP标记链霉亲和素反应溶液	>1 h
		清洗微孔板	洗涤液（1×）	
5	显色反应	显色反应	TMB溶液	>30 min
			终止液	
		检测	酶标仪	

2. 处理流程“2. 渗透处理”的操作方法

- (1) 根据PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒的使用说明书，操作至添加一抗反应液前的清洗步骤（【操作方法】4）。
- (2) 向细胞外囊泡样品（孔）中添加100 μL的渗透处理液或100 μL的阴性对照溶液。
- (3) 贴上封板膜，使用微孔板摇床，在500 rpm，室温下孵育1 h。
- (4) 通过倾析（倾泻法）去除反应液，各个孔使用300~500 μL的洗涤液（1×）清洗3次。
- (5) 从处理流程“3. 一抗反应”开始，根据PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒的使用说明书，操作至“【操作方法】5”

关于检测后的计算和分析方法，请参考 PS Capture™ 外泌体 ELISA 试剂盒的使用说明书。

配合PS Capture™ 外泌体流式试剂盒使用

【除本产品之外需要准备的物品】

① 流式试剂盒（□为确认框）

□ 使用试剂盒

产品编号	产品名称
297-79701	PS Capture™ Exosome Flow Cytometry Kit PS Capture™ 外泌体流式试剂盒

② 试剂明细（□为确认框）

- 纯净水（蒸馏水）
- 特定细胞外囊泡的内部标志物检测抗体

请准备荧光标记抗体。

③ PS Capture™ 外泌体流式试剂盒包括以下试剂

- ☐ 洗涤缓冲液 (10×)
- ☐ 外泌体结合增强子 (100×)
- ☐ 细胞外囊泡结合磁珠

请使用 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒中配套的外泌体结合增强子。使用缓冲液于本试剂盒中并不会导致用于 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒中的缓冲液不足。

④ 器具明细 (□为确认框)

- ☐ 离心管 (15 mL)
- ☐ 离心管 (15 mL)
- ☐ 涡旋混合器
- ☐ 台式离心机
- ☐ 磁力架
- ☐ 流式细胞仪

【试剂的准备】

1. 制备渗透处理液
- 请参考下方表1稀释各试剂, 并充分混匀。

表1. 各试剂的稀释倍数和制备渗透处理液的各试剂所需添加量

试剂名称	稀释比例	2次反应的量 (添加量100 μL) ※	4次反应的量 (添加量167 μL) ※	8次反应的量 (添加量300 μL) ※
纯净水 (蒸馏水)	-	126 μL	184.8 μL	294 μL
Reagent A (20×)	1:20	7.5 μL	11 μL	17.5 μL
Reagent B (10×)	1:10	15 μL	22 μL	35 μL
Reagent C (100×)	1:100	1.5 μL	2.2 μL	3.5 μL
Total	-	150 μL	220 μL	350 μL

※ 添加量请参考PS Capture™ 外泌体流式试剂盒使用说明书中的表2“样品 (μL)”。

2. 制备阴性对照溶液

请参考下方表2稀释各试剂,并充分混匀。
(制备阴性对照溶液无需添加Reagent A)

表2. 各试剂的稀释倍数和制备阴性对照溶液的各试剂所需添加量

试剂名称	稀释比例	2次反应的量 (添加量100 μL) ※	4次反应的量 (添加量167 μL) ※	8次反应的量 (添加量300 μL) ※
纯净水 (蒸馏水)	-	133.5 μL	195.8 μL	311.5 μL
Reagent B (10×)	1:10	15 μL	22 μL	35 μL
Reagent C (100×)	1:100	1.5 μL	2.2 μL	3.5 μL
Total	-	150 μL	220 μL	350 μL

※ 添加量请参考PS Capture™ 外泌体流式试剂盒使用说明书中的表2“样品(μL)”。

3. 制备WB (+Enhancer)

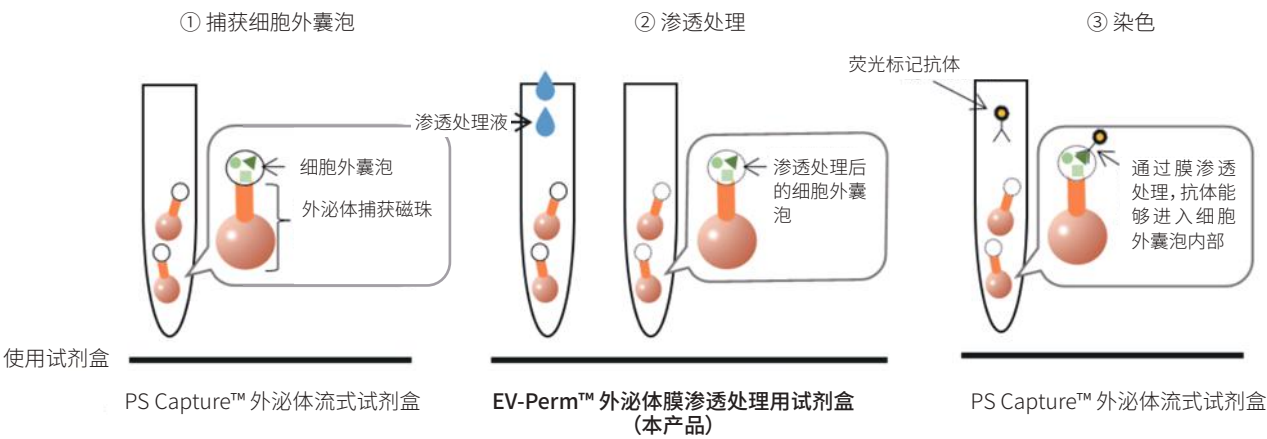
向 15 mL 离心管中添加 0.5 mL 洗涤缓冲液 (10×) 和 4.5 mL 纯净水, 涡旋混合。然后再添加 50 μL (1/100 v/v) 的外泌体结合增强子 (100×), 涡旋混合。

以上为使用 1.5 mL 离心管反应体系 (2 次反应的量) 的液体量。如需扩大反应体系, 请参考 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒使用说明书中的表 2 来增加。

4. 制备细胞外囊泡结合磁珠

请参考 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒使用说明书中的“2. 细胞外囊泡的分离”进行准备。

【反应流程图】



【操作步骤】

1. 处理流程

步骤			使用试剂和仪器	时间
1	分离细胞外囊泡	分离细胞外囊泡	WB (+Enhancer) Exosome Capture Beads	>70 min
		捕获细胞外囊泡	WB (+Enhancer)	
2	渗透处理（使用本试剂盒）	渗透处理※	① 渗透处理液 ② 阴性对照溶液	>1 h
		清洗	WB (+Enhancer)	

接下来步骤依据PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒进行。

步骤			使用试剂和仪器	时间
3	抗体孵育	抗体孵育	荧光标记同型对照抗体或荧光标记细胞外囊泡标志物检测用抗体	>1 h
		清洗	WB (+Enhancer)	
4	检测	检测	流式细胞仪	

※ 每个样本分别进行渗透处理液和阴性对照溶液处理，在渗透处理的条件下进行检测。

2. 当分析1种细胞外囊泡标志物时，处理流程“2. 渗透处理”的操作方法

- (1) 根据 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒的使用说明书，操作至“2. 细胞外囊泡的分离”，制备 6 次反应的细胞外囊泡磁珠 (700 μL)。
- (2) 将 300 μL 的细胞外囊泡结合磁珠分装至 2 个微管中。
- (3) 离心微管，沉降磁珠。
- (4) 将微管置于专用的磁力架静置 1 min，用移液器去除上清。
- (5) 向微管中添加 300 μL 的 WB (+Enhancer)，涡旋混合。
- (6) 重复 (3)~(5) 的操作 2 次
- (7) 向各管中添加 100 μL 的渗透处理液或 100 μL 的阴性对照溶液，涡旋混合。
- (8) 室温静置 (7) 中的微管，分别在 20 min、40 min 后进行涡旋混合，外泌体的渗透处理共需 1 h。
- (9) 离心 (8) 的微管，沉降磁珠。
- (10) 将微管置于专用的磁力架上静置 1 min，用移液器去除上清。
- (11) 向微管中添加 300 μL WB (+Enhancer)，涡旋清洗。
- (12) 重复 (10)~(11) 的清洗操作 2 次。
- (13) 向微管中添加 300 μL WB (+Enhancer)，涡旋混合。
- (14) 从步骤流程“3. 细胞外囊泡的染色”开始，根据 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒的使用说明书，完成步骤“3. 细胞外囊泡的染色”。

关于检测后的计算和分析方法，请参考 PS Capture™ 外泌体流式试剂盒的使用说明书。

上述试剂仅供实验研究用，不可用作“医药品”、“食品”、“临床诊断”等。

Listed products are intended for laboratory research use only, and not to be used for drug, food or human use. / Please visit our online catalog to search for other products from FUJIFILM Wako: <https://labchem-wako.fujifilm.com> / This leaflet may contain products that cannot be exported to your country due to regulations. / Bulk quote requests for some products are welcomed. Please contact us.

富士胶片和光 (广州) 贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002、3003、3011室
北京 Tel: 13611333218 上海 Tel: 021 62884751
广州 Tel: 020 87326381 香港 Tel: 852 27999019
询价: wkgz.info@fujifilm.com
官网: labchem.fujifilm-wako.com.cn

官方微信



目录价查询

