

尿(urine)サンプルからのエクソソーム回収: Total Exosome Isolation (from urine)(Cat#4484452) を用いた濃縮・回収

(サンプルの前処理)

推奨するスタート量は
0.8~5mL

1. 尿サンプルを処理まで氷中に置く
凍結サンプルを使用の場合は、25~37°Cのwater bath中で完全に融解させ、氷中に置く
(凍結サンプルの場合、サンプル成分が均一化するようにvortexで30~60秒間ミックス)
2. 遠心(2000xg、30min、4°C)で細胞や細胞デブリスをペレット化し、新しいチューブに上清を移す(ペレットが混入しないように注意)
次の操作に進むまで氷中に置く

(エクソソームの濃縮・回収)

1. 前処理した尿サンプル量と等量のTotal Exosome Isolation (from urine) reagent.を添加し、全体が均一になるまでよくミックスする
例: 800 μ Lの尿に対して、800 μ Lのreagentを添加する
5mLの尿に対して、5mLのreagentを添加する
2. 1のmixtureを室温で1時間 インキュベートする
3. 遠心処理(10,000xg、1時間、4°C)
4. 上清をきれいに排除する。エクソソームはペレット化されて回収される
注意: 尿サンプル由来のエクソソームペレットは目視で確認できないことがある
重要: 固定型のアングルローターの遠心機を用いた場合、ペレットはチューブ側面に沿って広い範囲で付着されます。
スウィングローターの遠心機を用いた場合は、ペレットはチューブの底に回収される
5. (オプション) 上清が残ってしまった場合は、再度遠心処理(10,000xg、5分間)し、さらに残った上清をきれいに除去する
6. ペレットを1 x PBSまたは以後のアプリケーションに使用するbufferで懸濁する。遠心機によってペレットが回収される位置が異なります。ペレットは目視で確認できないことが多いので、ペレットが回収されると想定される領域全体を懸濁します。
参考: 懸濁するbufferの液量:
スタート量が 800 μ Lの場合、20~50 μ L
スタート量が 5mLの場合、100~300 μ L
7. エクソソームの保存
2~8°Cで最大1週間保存可能
長期保存の場合は、-20°C以下で保存

