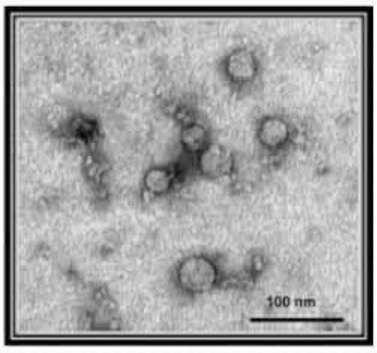
ZANTOX
www.zantoxbio.com

Kavosh Arian Azma Co.
شرکت کاوش آریان آزما

Exosome Isolation Kit

Antox -109

This product is for research use only



500 tests

خلاصه کار :

۱. سانتریفیوژ نمونه g×۳۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، g×۲۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه و g×۱۰۰۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه دمای ۴°C
۲. عبور سوپرناتانت از فیلتر ۰٫۲۲ µm یا ۰٫۴۵ µm
۳. ورتکس و گرم کردن معرف R۱ تا ۳۷°C به مدت ۳۰ دقیقه
۴. ترکیب نمونه با معرف R۱ به نسبت ۵:۱
۵. ورتکس نمونه به مدت ۵ دقیقه
۶. انکوباسیون نمونه به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴°C
۷. ورتکس نمونه به مدت ۳ دقیقه
۸. سانتریفیوژ نمونه g×۱۰۰۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه دمای ۴°C
۹. حذف کامل سوپرناتانت
۱۰. حل کردن پلت در ۱۰۰ میکرولیتر (۲۰۰_ ۵۰ میکرولیتر بر حسب میزان پلت) معرف R۲
۱۱. نگهداری نمونه در ۴°C برای مدت کوتاه یا در ۲۰°C- یا ۸۰°C- به مدت طولانی

منابع:

1- Badawy AA, El-Magd MA, AlSadrah SA. Therapeutic effect of camel milk and its exosomes on MCF7 cells in vitro and in vivo. Integrative cancer therapies. 2018;17(4):1235-46.

2- Zhang Z, Dombroski JA, King MR. Engineering of exosomes to target cancer metastasis. Cellular and molecular bioengineering. 2020;13(1):1-16.

3- Agliardi C, Clerici M. Blood extracellular vesicles (EVs) of central nervous system origin: a window into the brain. Neural regeneration research. 2020;15(1):55.

4- Zeringer E, Li M, Barta T, Schageman J, Pedersen KW, Neurauter A, et al. Methods for the extraction and RNA profiling of exosomes. World journal of methodology. 2013;3(1):11.

5- Reif S, Shiff YE, Golan-Gerstl R. Milk-derived exosomes (MDEs) have a different biological effect on normal fetal colon epithelial cells compared to colon tumor cells in a miRNA-dependent manner. Journal of translational medicine. 2019;17(1):1-10.

استان خراسان جنوبی، بیرجند، خیابان غفاری، بین غفاری ۹ و ۱۱، پلاک ۵۲، ساختمان آریان، طبقه پنجم،
شرکت کاوش آریان آزما
zantoxbio
0915 723 0129 056 - 32207001
KAA@zantoxbio.com www.zantoxbio.com

اصول آزمایش :

اگزوزوم ها وزیکول های خارج سلولی با قطر حدود ۳۰-۱۵۰ نانومتر هستند که در یک فرآیند وابسته به انرژی از سلول های زنده آزاد می شوند. اگزوزوم ها به طور خاص با اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها و پروتئین های سلول های مبدا خود بارگیری می شوند. بنابراین، ساختار وزیکول های خارج سلولی نشان دهنده نوع و وضعیت متابولیسمی سلول های تولید کننده ی خود هستند و نقش مهمی در انتقال مواد و اطلاعات بین سلول ها دارند. اگزوزوم ها توسط بسیاری از انواع سلول به مایعات بدن مانند: خون ، ادرار، براق، شیر مادر، مایع منی، مایع آسیت و مایع مغزی نخاعی ترشح می شوند. این محصول یک روش ساده و قابل اعتماد برای استخراج اگزوزوم های موجود در مایعات بیولوژیک ارائه می دهد. وزیکول های اگزوزومی جدا شده توسط این محصول برای کاربردهای مختلف مانند آنالیز میکروسکوپ الکترونی، وسترن بلات، توالی یابی زنی و... با توان عملیاتی بالا، مناسب هستند.

مزایای کیت:

- تولید بالا
- خلوص بالا
- راندمان بالا
- عملکرد آسان
- بدون نیاز به تجهیزات پیشرفته مانند اولتراسانتریفیوژ

محتویات کیت:

- معرف R۱: دو ویال ۵۰ میلی لیتر
- معرف R۲: دو ویال ۵۰ میلی لیتر

شرایط نگهداری و ذخیره:

- درب همه ی معرف ها باید پس از مصرف محکم بسته شده و در دمای ۲ تا ۸ درجه سانتیگراد دور از نور نگهداری شوند. معرف ها حداقل تا ۶ ماه پس از باز شدن درب ویال ها پایدار هستند.
- اجزای کیت نباید با اجزای کیت های دیگر جایگزین یا مخلوط

نمونه ها:

- انواع مایعات بیولوژیک شامل: خون ، ادرار، براق، شیر مادر، مایع منی، مایع آسیت و مایع مغزی نخاعی
- سوپرناتانت (محیط رویی) کشت سلولی
- پایداری نمونه ها: در صورت نیاز به نگهداری نمونه ها ترجیحا تا زمان انجام آزمایش در دمای ۸۰°C- ذخیره گردند.

روش انجام آزمایش:

۱- ابتدا سلول ها، بقایای سلولی و وزیکول های بزرگتر، به صورت سریالی حذف شود:
سانتریفیوژ g×۳۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه دمای ۴°C
سانتریفیوژ g×۲۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه دمای ۴°C
سانتریفیوژ g×۱۰۰۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه دمای ۴°C

۲-سوپرناتانت حاصله را به دقت جدا نموده و به میکروتیوب جدید منتقل کنید. (جهت افزایش کارایی سوپرناتانت را از طریق فیلتر های ۰٫۲۲ µm یا ۰٫۴۵ µm عبور دهید)

۳- معرف R۱ را ورتکس و تا دمای ۳۷°C به مدت ۳۰ دقیقه گرم کنید تا کریستال های موجود در معرف کاملا از بین بروند.

۴- سوپرناتانت جمع آوری شده به نسبت ۱:۵ با معرف R۱ (معرف R۱:۱ سوپرناتانت:۵) مخلوط کنید.

۵- میکروتیوب حاوی ترکیب سوپرناتانت و معرف به مدت ۵ دقیقه ورتکس شود تا حالت ابری ایجاد شود.

۶- محلول را به مدت ۱۲ساعت (overnight) در دمای ۴°C انکوبه کنید. (جهت افزایش کارایی، میکروتیوب را هر۱ ساعت ورتکس کنید)

۷- میکروتیوب ۳-۵ دقیقه کاملا ورتکس شود.

۸- میکروتیوب g×۱۰۰۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه دمای ۴°C سانترفیوژ شود.

۹- سوپرناتانت به طور کامل حذف شود.

۱۰- پلت باقی مانده در۱۰۰ میکرولیتر (۲۰۰_ ۵۰ میکرولیتر بر حسب میزان پلت) معرف R۲ حل شود. (عدم مشاهده رسوب به شکل واضح به معنای شکست در روش استخراج نیست. برای رفع این مشکل لطفا اطمینان حاصل کنید که نمونه اضافه شده است و برای افزایش کارایی مدت زمان overnight را به ۲۴ ساعت افزایش دهید)

۱۱- اگزوزم های جداسازی شده در دمای ۴°C به مدت چند روز و در دمای ۲۰°C- یا ۸۰°C- برای مدت چند ماه قابل نگهداری هستند.