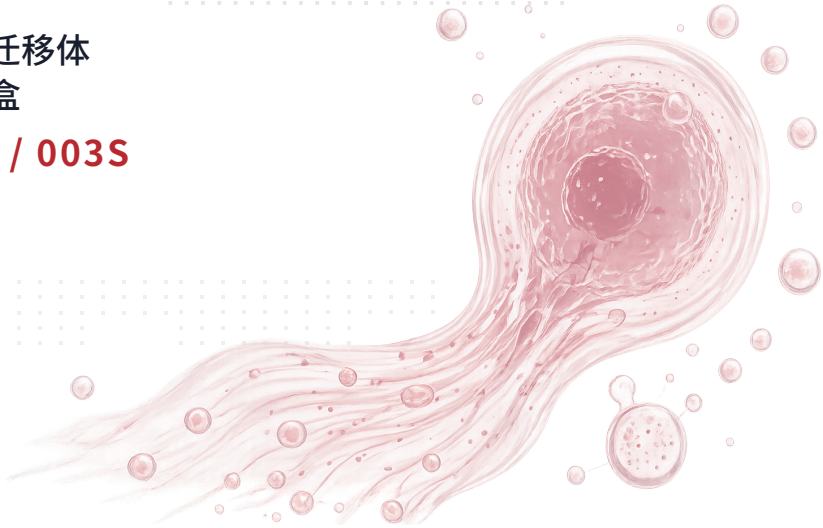
Migrasome Therapeutics

北京迈格松生物科技有限公司

MigraPure™ Purification

培养细胞迁移体纯化试剂盒

PRC003 / 003S



使用说明书

MigraPure™ Purification
培养细胞迁移体纯化试剂盒

货号	规格
PRC003	10T (提取10次100 μg 粗提)
PRC003S	2T (提取2次100 μg 粗提)

重要提示：本试剂盒专为科学研究设计，不适用于临床诊断目的。请参阅下页的详细风险及责任声明，并确保在使用本产品前仔细阅读。

产品简介

本试剂盒专用于从培养细胞中提取迁移体。

本试剂盒具有快速、高效、操作简单等特点，提取的迁移体产物质量稳定可靠、蛋白污染程度低，可用于迁移体计数、蛋白提取分析、RNA 提取分析、细胞功能检测等生物学实验。

产品内容

产品组成	PRC003 (10 tests)	PRC003S (2 tests)
梯度液 A ~ I	5.0 mL	1.0 mL
重悬液 L	100 mL	20 mL
说明书	一份	一份

用户自备试剂

1. 细胞培养相关试剂和耗材(胰酶、培养皿等)
2. 1×PBS溶液:必须无菌
3. 收集管(低吸附1.5 mL EP 管、15 mL离心管、50 mL 离心管)
4. 低速平转子离心机和高速斜转子离心机
5. 5 mL密度梯度超速离心用离心管及超速离心机(其他型号的超速离心机也可以,详见注意事项8)
6. 低吸附移液枪枪头

保存和运输

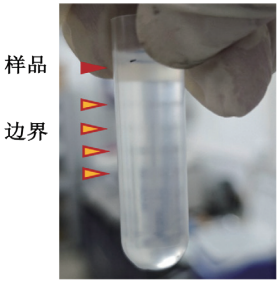
4℃ 运输,收到试剂盒后请于4℃ 冰箱保存,有效期12 个月。

操作步骤

1. 用500 μL梯度液I重悬粗提的沉淀，推荐上样量在100 μg左右，需根据粗提样品纯度适当调整（详情见注意事项6）；

2. 按梯度液A到梯度液H的顺序各500 μL依次加入5 mL密度梯度超速离心用离心管中，最后将用梯度液I重悬的粗提迁移体摞在最上面，全过程需极其轻柔，以避免破坏密度梯度的界面；

   注：可用洁净的剪刀剪去1 mL枪头的尖端后，制备密度梯度；为了延长密度液的保质期并避免迁移体样品后续产生污染，尽量在超净台或生物安全柜中完成密度梯度的制备；成功制备后，应如下图，各层边界应清晰可见；

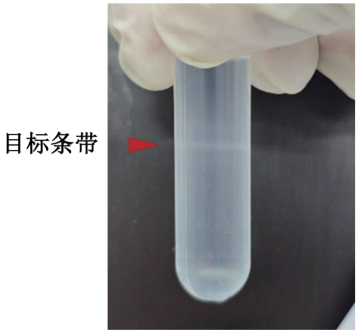


3. 4 ℃ 150,000×g离心4 hr；

   注：推荐使用贝克曼台式超速离心机MLS-50的转子；若无该离心机，请见注意事项8；

4. 离心结束后，按每层500 μL取第3~5层（见下注），按样品：试剂L为1:2的比例稀释样品，并充分混匀后，4℃ 18,000×g离心60 min；

注：如果样品量大，清晰可见目标带；由于不同细胞的富集层可能有所差异，如果是第一次提取该细胞系所产的迁移体，建议每层都留取样品，进行检测后确定具体样品层；下图为L929细胞实例，仅供参考，不同细胞样品的目标条带会有差异；



5 沉淀即为精提迁移体，后续实验及保存条件详见注意事项9。

注意事项

1. 可迁移的细胞系和原代细胞均可产生迁移体，产生能力与细胞本身性质相关，需要使用者进行测试摸索。推荐使用贴壁且迁移能力较强的细胞，或者在过表达Tspan4等促进迁移体产生的基因后，贴壁且迁移能力变强的细胞。不推荐使用悬浮的细胞，但可尝试使用细胞外基质或基因编辑后使其贴壁。建议正式生产迁移体前，使用WGA染料对迁移体进行原位染色，并在镜下观测迁移体生产效果；

2. 迁移体需要在细胞迁移过程中产生，细胞不宜过于密集，根据我们的经验，考虑到不同细胞的迁移速率，应将收集时细胞汇聚度控制在20%-40%之间，迁移较快的细胞密度应适当降低；

3. 迁移体生产时间需要严格控制，时间过长过短都会降低迁移体生产效率，根据我们的经验，建议在12~16 hr左右；

注意事项

4. 迁移体生产依赖于细胞表面与培养介质表面的互相作用，不同细胞在不同的细胞外基质上的迁移体的产量可能有所不同；另外，需测试最适消化方式，过弱的消化方式会残留较多迁移体，降低产量，过强的消化及吹打则会增加细胞破碎几率，降低样品纯度；

5. 低速离心时建议使用水平转子，高速离心时建议使用倾斜角度>45°的角转子；

6. 正常情况下，推荐上样量在100 μg左右；每个密度梯度的上样量有限，过大上样量可能会导致分离不充分，降低精提纯度；得率在20~30%左右。另外，根据粗提样品的纯度不同，可上样量会有很大区别，如果样品不纯，混杂大量的膜碎片、胞内细胞器等，上样量可能需要调整；

7. 在配制密度梯度时需极其轻柔，以避免密度梯度界面被破坏。可以尝试用剪刀剪去1 mL枪头的尖，用其配制密度梯度会更容易；

8. 若没有贝克曼台式超速离心机MLS-50的转子，可以选用其他可达150,000×g的平转子超速离心机；离心体系需根据离心管进行等比例缩放：比如，9.5 mL的超速离心管，可每层加入1 mL密度梯度液；

9. 粗提及纯化后的迁移体保存方式应依据后续实验进行选择。关注内容物的实验，如核酸提取、WB、质谱等，可以在高速离心后，去除上清，将迁移体沉淀保存于-80℃以待后续实验；关注形态、数量、表面性质、活性的后续实验，例如共聚焦成像、囊泡计数、流式检测、普通负染电镜、细胞功能实验等，推荐4℃保存，经过多次测试，迁移体在一周内4℃保存对其形态、数量影响均较小。-20℃及-80℃冻存后，迁移体会发生聚团及一定的破裂现象，且不同细胞来源的迁移体有一定不同，若样品因各种原因需要冻存，推荐进行一定预实验进行测试。

重要风险与责任声明

本试剂盒仅供科研用途，并已按照科研试剂相关标准和法规要求进行设计和生产。客户使用前，请仔细阅读产品说明书，必须保证遵守所有适用的生物安全、法律、伦理和隐私法规等法律与规定，包括但不限于：

1. 合规性：本产品不得用于任何临床诊断、治疗或其他医疗用途。
2. 生物安全：用户应采取适当的生物安全措施，避免感染风险，并严格遵循生物危害物料的处理和存储规程。
3. 伦理与隐私：样本采集须遵守所有相关的伦理审查标准，保护个人隐私，且需获得相应的知情同意。
4. 交叉污染：用户需按照本说明书操作，以避免样本交叉污染，并确保实验结果的准确性。
5. 存储与稳定性：正确存储本试剂盒以保持其稳定性和有效性。未按说明存储的产品可能导致性能下降。
6. 废弃物处理：使用后的试剂及样本需按照当地法规安全处置。
7. 产品性能限制：本说明书中已详细描述了产品性能及使用限制。任何超出说明书指导的使用方式，本公司概不负责。

本公司不对因不当使用本产品或未遵守适用法规造成的任何直接或间接后果承担法律责任。如有任何疑问或需要进一步信息，请联系客户服务部门。

Migrasome Therapeutics

单位名称：北京迈格松生物科技有限公司
单位地址：北京市昌平区医疗园路9号院2号楼4层
邮　编：102200
电　话：010-53671078
邮　箱：service@migrasome.com
公司网址：www.migrasome.com