

产品使用说明书

细菌膜囊泡分离试剂盒

培养基上清液

Bacterial MVs Isolation Kit

For bacterial culture media

Cat.# BacMV40-10

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd

Version 2.0

01/01/2020

目 录

保存和应用	2
产品介绍	3
试剂盒组成和说明	4
操作方法	4
实验数据分析.....	6
技术支持	8

保存与应用

【保存条件】

本试剂盒低温下运输，2-8℃下可保存 12 个月，使用前各试剂需充分混匀。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断。

本试剂盒仅适用于细菌培养上清液中囊泡的分离，可应用于囊泡的鉴定（NTA，TEM，Western Blot），核酸提取等。

产品介绍

大多数细菌均释放膜囊泡 (Membrane Vesicles, MVs), 直径 200-400nm, 其内含物含有特定分子, 具有不同的功能, 包括毒力因子的运输, 水平 DNA 的转移, 宿主防御因子等, 在细菌及细菌宿主之间的交流起重要作用[1]。MVs 最初被发现是来源于革兰氏阴性菌外膜的膜性小泡, 称为外膜囊泡 (Outer Membrane Vesicles, OMV), 然而, 研究表明, 革兰氏阳性菌也能产生 MVs, 除 OMV 外, 还存在不同类型的 MVs, 比如可由内容素引发的细胞溶解形成的 MVs 等[2]。研究人员利用 OMV 研究宿主细菌在发病机制、癌症治疗、调节宿主免疫应答和作为疫苗的工程等方面的相互作用[3-5]。

为了快速分离细菌来源的 MVs, 润基生物在研发外泌体分离的经验基础上, 结合细菌 MVs 的结构特点, 研发出“细菌膜囊泡分离试剂盒”, 适合于革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌产生的不同囊泡。该试剂盒是基于亲和树脂层析原理来捕获细菌培养基中各种膜性囊泡, 具有高产量和高纯度特性, 提供除了超速离心方法之外的另一种选择。

此试剂盒有不同规格, 一次可处理 10ml 或 40ml 细菌培养基, 操作简单, 适合常规实验室的囊泡研究, 分离的 MVs 可用于粒径分析, 核酸提取, Western Blot 等。

参考文献

1. Schwegheimer, C. & Kuehn, M. J. Outer- membrane vesicles from Gram negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat. Rev. Microbiol.* 13, 605–619 (2015).
2. Brown, L., Wolf, J. M., Prados-Rosales, R. & Casadevall, A. Through the wall: extracellular vesicles in Gram- positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nat. Rev. Microbiol.* 13, 620–630 (2015).
3. Gujrati, V. et al. Bioengineered bacterial outer membrane vesicles as cell specific drug delivery vehicles for cancer therapy. *ACS Nano* 8, 1525–1537 (2014).
4. Kaparakis- Liaskos, M. & Ferrero, R. L. Immune modulation by bacterial outer membrane vesicles. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 375–387 (2015).
5. Masanori Toyofuku¹, Nobuhiko Nomura¹ and Leo Eber. Types and origins of bacterial membrane vesicles. *Nat. Rev. Microbiol.* 17, 3–24 (2019).

试剂盒组成和说明

产品组成 Cat.# BacMV40-10	含量	保存条件
结合缓冲液 (Binding Buffer)	40mL	2-8°C
结合树脂 (Binding Resin)	16mL	2-8°C
洗涤液 (Washing Buffer)	40mL	2-8°C
洗脱液(Elution Buffer)	16mL	2-8°C
纯化柱 (Spin Columns)/收集管 (Collection Tubes 15ml)	10 套	RT
15ml 离心管 (Centrifuge Tubes 15ml)	10 个	RT

操作方法

1. 样本预处理

对于冻存的细菌培养上清，室温或 25°C 水浴解冻，将完全融化的样品置于冰上；对于新鲜的细菌培养上清，收集样品后置于冰上，5,000×g，4°C 离心 20min，将上清液转移新的离心管中，再次 5,000×g，4°C 离心 20min 彻底去除细菌和细菌碎片，收集上清液，待用。

2. MVs 树脂捕获

吸取 40ml 上述处理的细胞培养上清于 50ml 离心管中（试剂盒不提供），加入 4ml 的结合缓冲液，盖紧盖子，颠倒混匀。

吸取 1.6ml 结合树脂（吸取前彻底混匀结合树脂，快速吸取）加入步骤 2 的 50ml 离心管中，盖紧盖子，室温颠倒混匀 15min 后，1,500×g 室温离心 2min。轻轻将离心管从离心机中取出，用移液器取 1ml 上清液（不要弃掉），小心倒掉剩余上清液，用移液器中的液体（1ml）轻轻吹起树脂，全部转移至纯化柱中（已放入收集管），静置 2min，2,000×g 室温离心 2min，弃去滤液，将纯化柱放回收集管中。

3. MVs 洗涤

取 2ml 洗涤液加到纯化柱中（已放入收集管），静置 3min，3,000×g 室温离心 2min，弃去滤液，重复洗涤一次。

4. MVs 洗脱

将纯化柱转移至低吸附蛋白的 15ml 离心管中（试剂盒提供），加入 1.6ml 洗脱液，静置 5min， $300\times g$ 室温离心 2min，将滤液重新加入纯化柱，静置 2min，最后 $3000\times g$ 离心 2min，离心管中所得液体即为浓缩后的细菌 MVs 溶液。

提取的细菌 MVs 可直接应用于下游实验，或者 $2-8^{\circ}\text{C}$ 保存一周，或者 -20°C 或 -80°C 保存大约三个月。

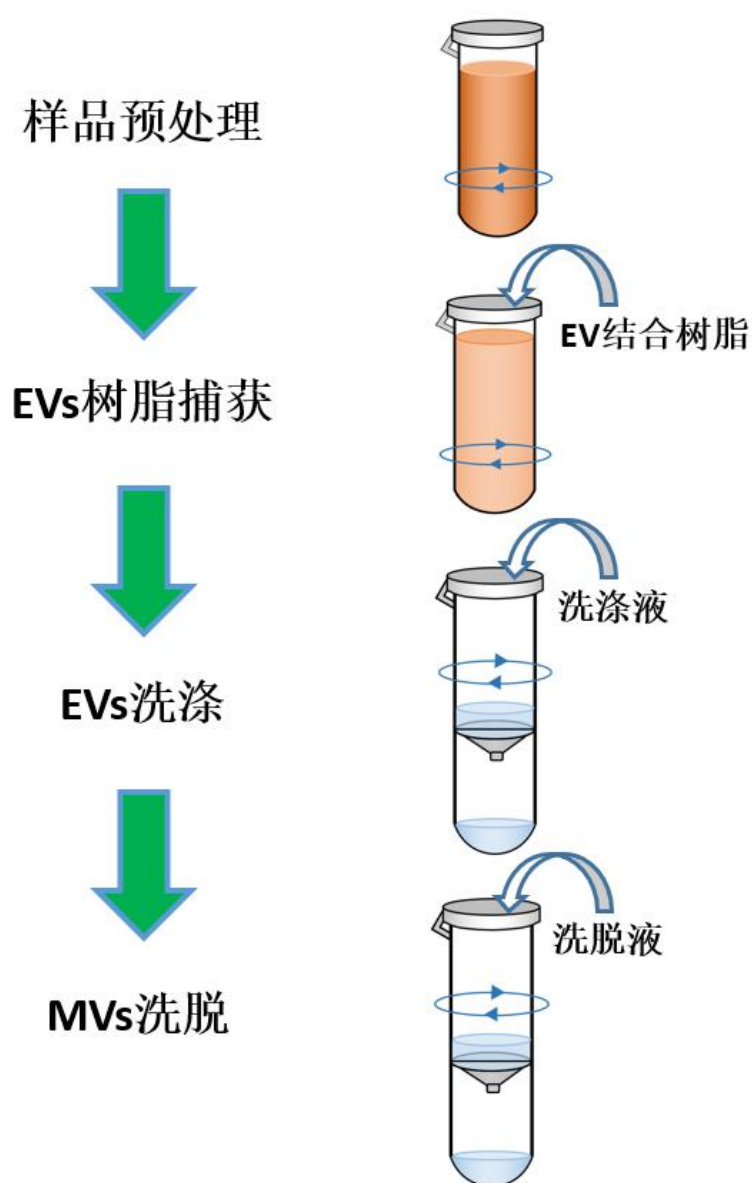


图 1 简单操作流程

实验数据分析

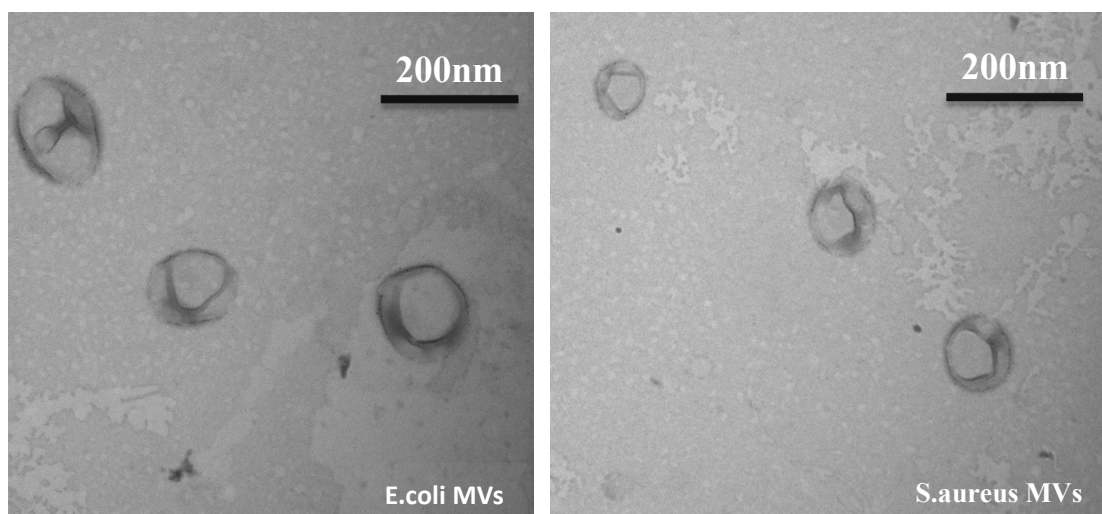


图 1. 从上面透射电镜图片可见较典型的茶托状囊泡形态，直径分布 50-150nm，说明利用细菌膜囊泡分离试剂盒，不仅能够分离革兰氏阴性菌来源的囊泡，如 E.coli 来源的 OMV（左图），也能分离革兰氏阳性菌来源的囊泡，如 S.aureus 来源的 MVs（右图）。

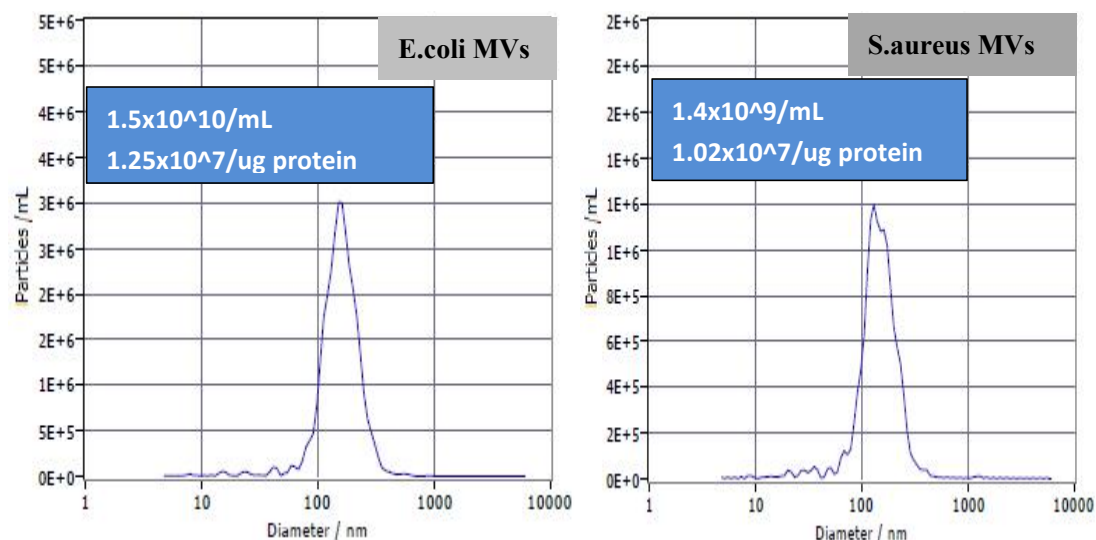


图 2. 对分离的细菌囊泡经蛋白浓度（BCA 法）、浓度和粒径测定（NTA 法），可见均具有较窄的粒径分布和较高的颗粒浓度（particles/mL）和纯度（particles/ug protein）。

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：<http://www.rengenbio.com>

同时可通过电话或 Email 接触技术支持。

辽宁润基生物科技有限公司

地址：辽宁省沈阳市铁西区经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼

邮编：110027

电话：024-31086590

传真：024-31086589

邮箱：公司信息 info@rengenbio.com

技术支持 support@rengenbio.com

产品订购 order@rengenbio.com



微信公众平台



外泌体科研交流平台