



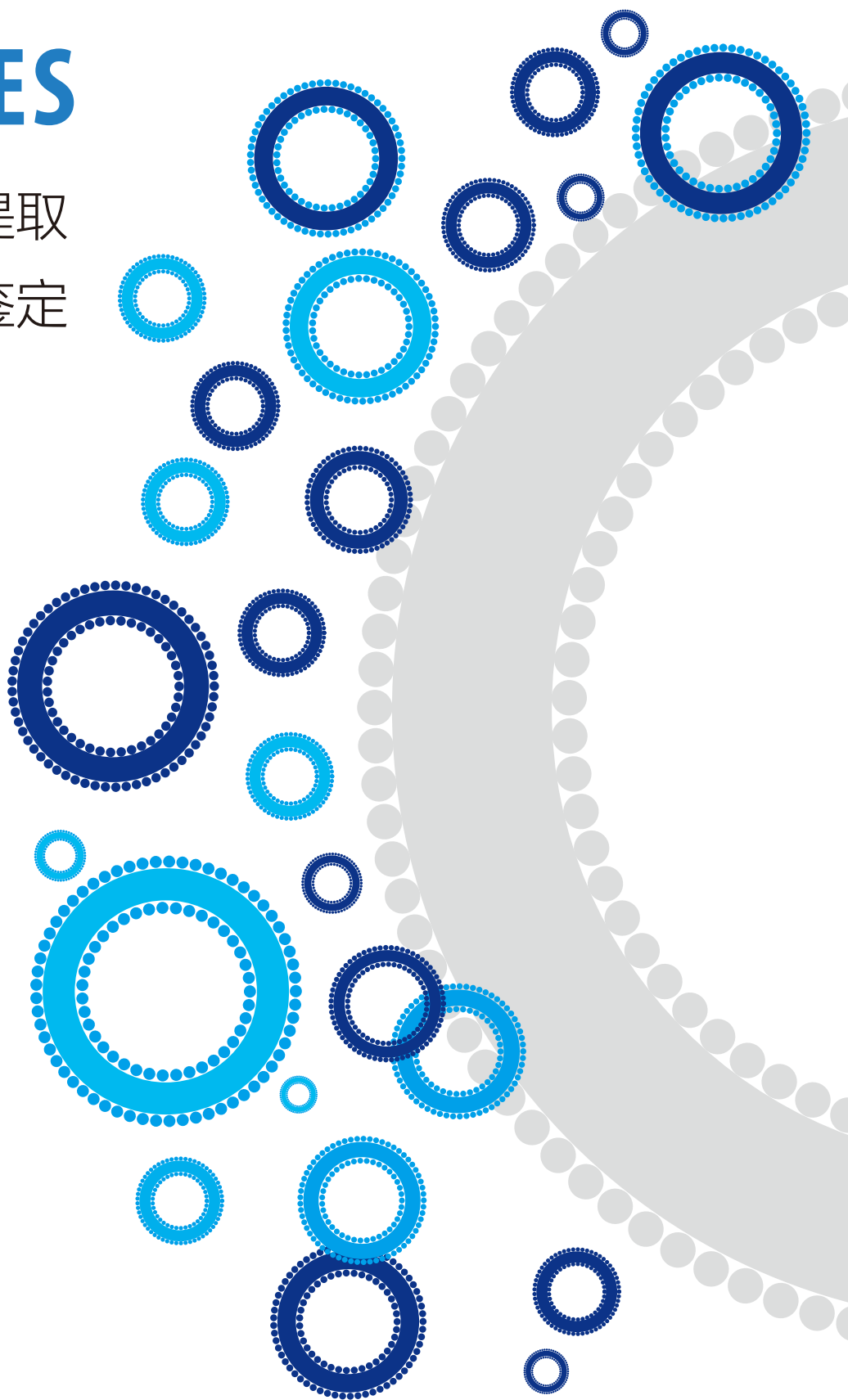
Shanghai XP Biomed Ltd.

上海逍鹏生物科技

EXOSOMES

外泌体富集 | 提取
追踪 | 定量 | 鉴定

Exosome Experts



CONTENTS

01

外泌体收集

02

外泌体富集

03

外泌体分离

04

外泌体定量

05

外泌体追踪

06

外泌体鉴定

01

外泌体收集

(细胞培养阶段) 去外泌体胎牛血清

在外泌体研究中，如果是从细胞培养上清中获取外泌体以进行后续研究，需避免使用常规胎牛血清。因为胎牛血清中含有大量牛源外泌体，会极大程度干扰实验。

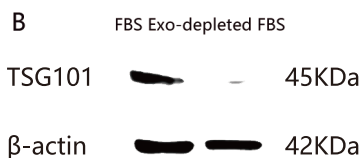
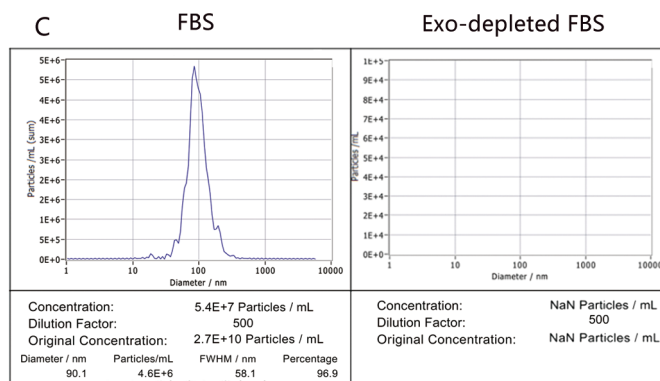
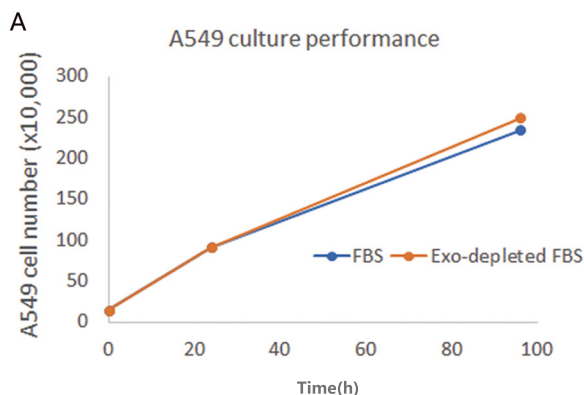
因此，建议在细胞培养过程中，使用无血清体系或去外泌体血清，以保证后续实验的准确性。

VivaCell 去外泌体血清特点

- 第二代去外泌体胎牛血清
- 符合 CGMP 生产要求
- 去除 $\geq 99\%$ 胎牛血清内源外泌体
- 细胞可维持与正常胎牛血清中相同生长速率和形态



VivaCell 去外泌体血清测试数据



- A. 细胞株 A549 在正常胎牛血清和去外泌体胎牛血清中的生长速率相同；
- B. β -actin 为内参；相比于未处理的血清，去外泌体血清的 TSG101 含量极低；
- C. NTA 数据显示，去外泌体血清中已基本无可测得的外泌体颗粒。

订购信息

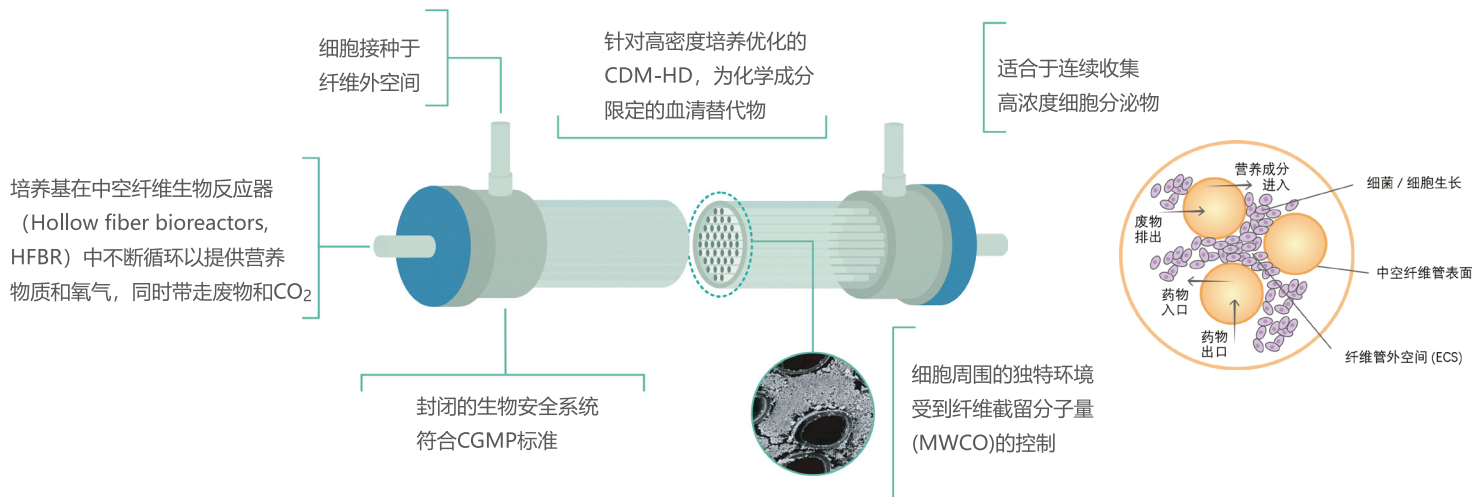
Exosome depleted Fetal Bovine Serum	
货号	规格
C38010050	50ml
C38010100	100ml

FiberCell 中空纤维细胞培养系统介绍

FiberCell 中空纤维细胞培养系统是美国 FiberCell Systems 公司的产品，应用之一是细胞生产外泌体的理想反应器。外泌体可长时间持续收获，保持活性不变。

FiberCell 工作原理

1. 蠕动泵、培养筒、培养基储液瓶通过导管连接构成一个连续流动的体系。
2. 中空纤维作用类似于微血管，纤维直径大约 200 μ m，并可选择不同通透率的纤维。
3. 培养基流经中空纤维内部，而细胞培养在纤维外空间；纤维膜在培养的细胞与流动的培养基之间形成一个半透膜的屏障，乳酸、葡萄糖等小分子可以自由穿透。
4. 细胞生长在中空纤维外时，分泌的产物如外泌体、单克隆抗体与蛋白质等大分子物质聚集在小体积的 ECS（Extracellular space，纤维管外空间）中，浓度为平盘或滚瓶培养的 10-100 倍。



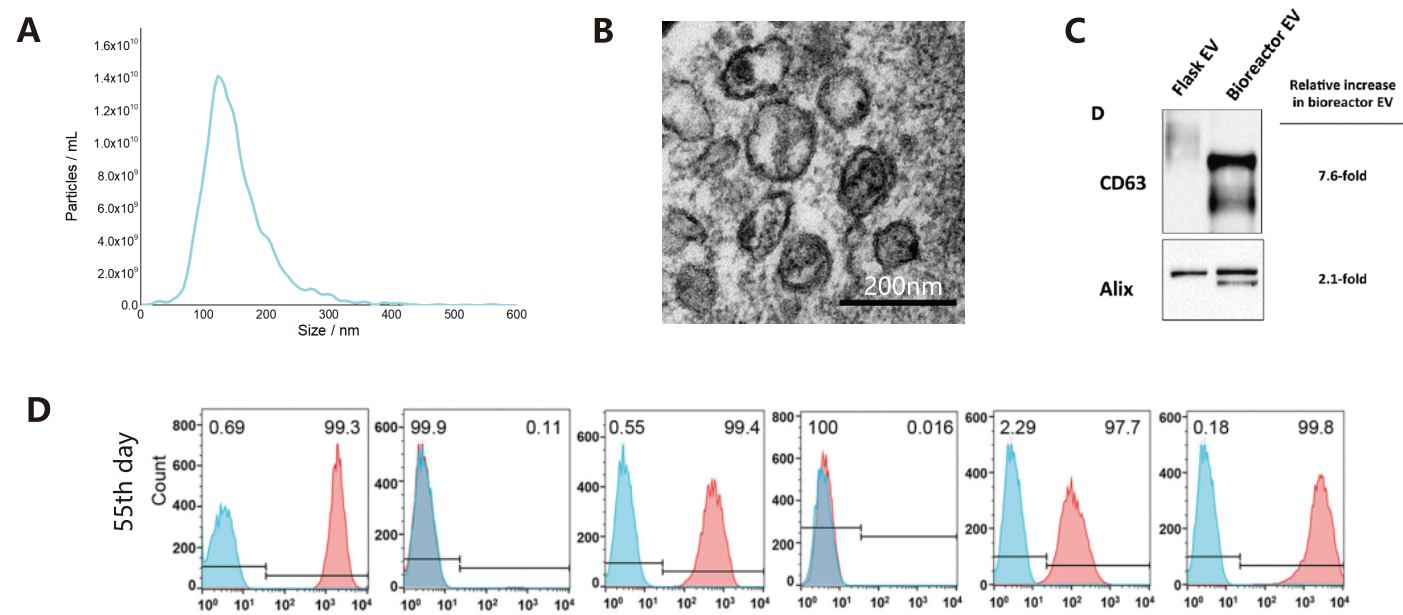
FiberCell 优势介绍

FiberCell 中空纤维细胞培养密度可达到 1×10^8 /ml，高密度细胞培养具有独特的优势：

- * 在 20ml 中可培养高达 10^9 个细胞
- * 增加细胞分泌产物浓度 10-100 倍
- * 不需传代，提高细胞活率，减少细胞凋亡
- * 单位时间可处理大量细胞
- * 产物不被血清中的外泌体污染
- * 细胞拥有更类似于体内细胞生长方式 (more *in-vivo* like)
- * 细胞可培养 8 周甚至更久
- * 更有效地利用培养基

FiberCell 用于外泌体富集

使用培养瓶生产外泌体时，需加入血清，因而在外源外泌体与蛋白杂质。而细胞在FiberCell系统中培养时，循环培养基中的外泌体不会进入细胞生长的空间，并且该系统也易适用于无血清环境，或使用血清替代物（CDM-HD，FiberCell）培养，从而得到高纯度与高浓度的外泌体，中型培养筒的单次收获相当于200-250个T175培养瓶。



中空纤维富集的外泌体，纯化后以NTA分析（A）和透射电镜（B）验证其物理特性；相较于2D平盘培养，中空纤维可以更有效地富集外泌体（C）；中空纤维细胞培养系统中培养55天的hucMSCs表面标记物的流式分析（D）。

3D 中空纤维培养与 2D 培养比较

3D中空纤维培养 VS 2D培养瓶培养 MSC收获外泌体实例		
日常操作比较		
比较项目	T175培养瓶	C2011中型培养筒
操作时间/h	5	0.25
操作培养瓶/筒数量/个	20	1
处理细胞数量/10 ⁸	2	10
收获上清总量/mL	700	20
收获外泌体比较		
比较项目	130个T225	1个C2011培养筒 (培养4周，收获6次)
收获体积/mL	4000	120
总外泌体蛋白/mg	0.9	14.45
总外泌体颗粒/10 ¹⁰	1.6	326.9
使用培养基总量/L	12	7

03

外泌体分离

Exo-spin™ 外泌体提取试剂盒

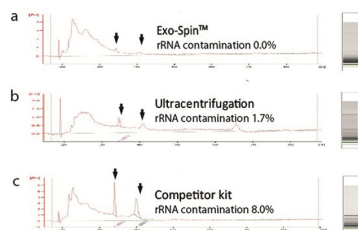
Exo-spin™ 产品介绍

英国 Cell Guidance Systems 公司（以下简称 Cell GS）的 Exo-spin™ 试剂盒，是基于沉降法（precipitation）和尺寸排除色谱法（Size Exclusive Chromatography, SEC）提取和纯化样本中的外泌体；同时也可选择单独使用尺寸排除色谱法提取和纯化样本中的外泌体。

- ◆ 操作简便并且产物纯度高
- ◆ 无需高速离心
- ◆ 纯化流程温和，不同样本耗时约 0.5~3 小时
- ◆ 外泌体产物中蛋白和 rRNA 污染极低
- ◆ 提取效果重复性高，每次纯化结果高度吻合
- ◆ 分离出的外泌体完好无缺，可以用于功能研究、RNA 及蛋白分析



高纯度



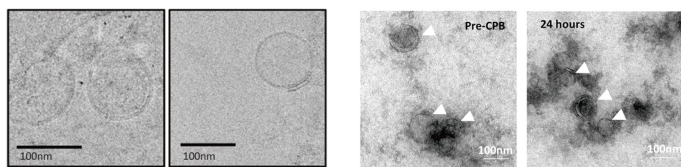
a: Exo-spin™ 试剂盒

b: 超速离心

c: 其他品牌试剂盒

Exo-spin™ 试剂盒分离出的产物中 rRNA 污染含量极低

透射电镜图例



左图 1, 2: 血浆来源外泌体的冷冻电镜图（使用 Exo-spin™ Cat: EX02-8 提取）

左图 3, 4: 血浆来源外泌体的透射电镜图（使用 Exo-spin™ Cat: EX03-8 提取）

Exo-spin™ 与其他方法的比较

	Exo-spin™ 外泌体纯化试剂盒	沉淀法	超速离心
产量	高	一般	一般
纯度	最高。杂蛋白被纯化管柱移除，产物只含有非常少量的 rRNA 污染。	以沉降试剂将外泌体和杂蛋白一起沉降，但此方法并没有将蛋白杂质移除的步骤。产物含有大量的 rRNA 污染。	高纯度，但产物内有大量的 rRNA 污染。
耗时	不同样本可能耗时 0.5~3 小时。	不同样本可能耗时 0.5 小时~隔夜。	较长，有时需要隔夜。

Exo-spin™ 外泌体提取操作流程

1. 分离去除所有细胞和细胞碎片；
2. 使用 Exo-spin™ 外泌体沉淀剂沉淀外泌体；
3. 使用 Exo-spin™ SEC 管柱进一步纯化外泌体。



选购指南

起始样本量 (每个Exo-spin™ 纯化管柱)	纯化方式	适用Exo-spin™ Kit	柱床长度
外泌体含量低的生物液体样本 (< 1x10 ⁹ /ml)包括细胞培养基, 唾液, 脑脊液, 尿液			
< 1ml to 50 ml	沉淀法+SEC法 (离心)	EX01 mini	1.3 cm
< 1 ml to 75 ml ^{Note 1}	沉淀法+SEC法 (重力流分离)	EX05 mini-HD	6.35 cm
75 ml to 500 ml ^{Note 1}	沉淀法+SEC法 (重力流分离)	EX04 midi	2.15 cm
血浆和血清			
< 100 µl ^{Note 2}	SEC	EX03 mini columns	1.3 cm
< 150 µl	SEC	EX05 mini-HD	6.35 cm
100 µl - 250 µl ^{Note 3}	沉淀法 + SEC	EX02 mini blood	1.3 cm
1 ml	SEC	EX04 midi	2.15 cm
* Note 1: 对于脑脊液 (CSF) 和人母乳样品, 仅使用EX01实验方案验证过, 具体操作方法请参见User Guide. * Note 2: 仅限于血清。 * Note 3: 血清可高达500 µL.			

订购信息

货号	名称	描述
EX01	Exo-spin™	通用型外泌体提取试剂盒 更适用于细胞培养液和唾液、尿液、母乳、脑脊液
EX02	Exo-spin™ blood	血液类样本外泌体提取试剂盒 适用于血清/血浆等外泌体含量较高的样本
EX03	Exo-spin™ columns	Exo-spin™通用型SEC纯化管柱
EX04	Exo-spin™ midi columns	Exo-spin™中型SEC纯化管柱
EX05	Exo-spin™ mini-HD columns	Exo-spin™ mini-HD SEC纯化管柱
EX06	Exo-spin™ Buffer	Exo-spin™沉淀剂

04

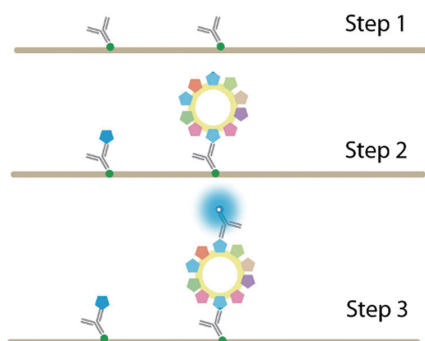
外泌体定量

TRIFic™ 外泌体荧光定量试剂盒

TRIFic™ 产品介绍

Cell GS 公司 TRIFic™ 利用荧光时间分辨免疫测定法，可精准定量未纯化样本中的外泌体。目前只适用于人来源样本的研究。

TRIFic™ 作用原理介绍



第一步

生物素化 (Biotinylated) 的抗体附着于链霉亲和 (streptavidin) 涂层板上。

第二步

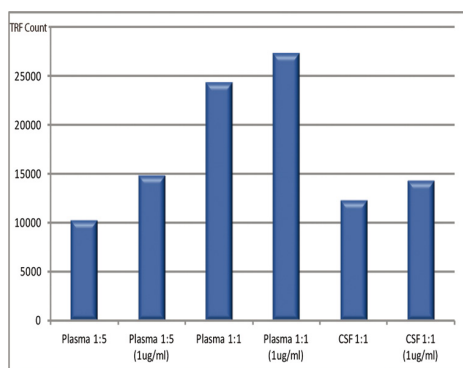
加入样本。外泌体及其他样本中的抗原 (CD9/CD63/CD81) 被抗体捕捉。

第三步

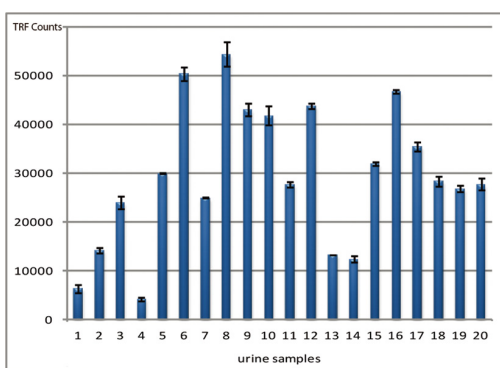
加入铕标记的抗体。铕标记的抗体有特异性，会与外泌体上的抗原结合；以时间分辨荧光分析仪观察结果。



TRIFic™ 应用结果展示



低浓度的外泌体分别加入稀释倍率不同的血浆或脑脊液中。在样本的背景干扰下仍能精确的检测到 1µg/ml 的外泌体。



利用 TRIFic™ 试验检测到 20 个尿液样本中的外泌体 CD9 表达蛋白含量存在大小不一的差异。

可测定

- 血浆
- 培养基
- 尿液
- 其他生物性液体

订购信息

货号	说明	规格
EX101	CD9表达蛋白使用	96 assays
EX102	CD63表达蛋白使用	96 assays
EX103	CD81表达蛋白使用	96 assays
EX-P31	Wash Buffer (Concentrate 25x)	20 ml

05

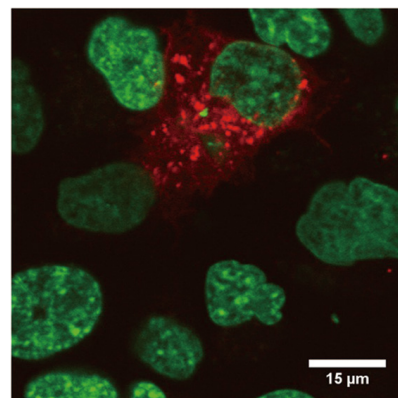
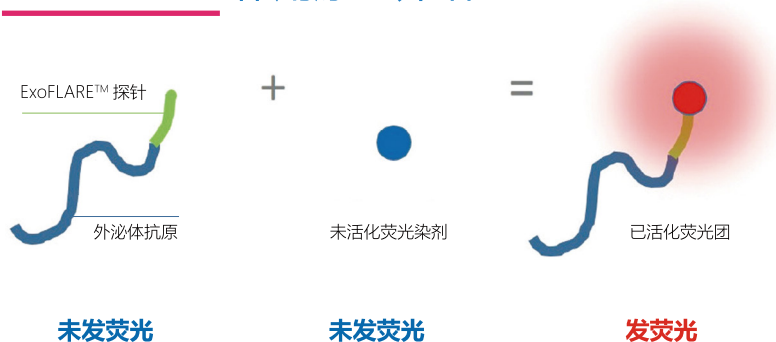
外泌体追踪

ExoFLARE™ 长效外泌体追踪试剂盒

ExoFLARE™ 产品介绍

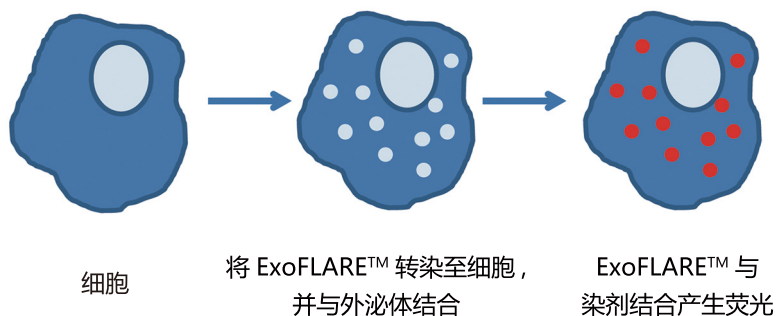
Cell GS 公司的 ExoFLARE™ 可将外泌体标记，特别适用于外泌体与细胞共培养的研究，能够分辨外泌体来自供细胞 (donor) 或受体细胞 (recipient)。目前只适用于人来源细胞的研究。

ExoFLARE™ 作用原理介绍



ExoFLARE™ CD81 蛋白标记物转染至 DU145N 细胞，在激光共聚焦显微镜下所观察到的图片。绿色为 Hoechst 核染色，红色为带有 ExoFLARE™ 标签的蛋白。

ExoFLARE™ 是能活化荧光染料 (Fluorophore) 的蛋白标记物，只有在 ExoFLARE™ 与荧光染料结合的时候才能观察到荧光。结合后 ExoFLARE™ 持续刺激荧光染料，可以长时间维持荧光亮度及低背景干扰。



订购信息

货号	说明	规格
EX301	与CD9表达蛋白结合 (无细胞通透性染料)	20μg
EX302	与CD63表达蛋白结合 (无细胞通透性染料)	20μg
EX303	与CD81表达蛋白结合 (无细胞通透性染料)	20μg
EX304	与CD9表达蛋白结合 (有细胞通透性染料)	20μg
EX305	与CD63表达蛋白结合 (有细胞通透性染料)	20μg
EX306	与CD81表达蛋白结合 (有细胞通透性染料)	20μg
EX401	EF Red xc 无细胞通透性染料	100/1000 assays
EX402	EF Red s 有细胞通透性染料	100/1000 assays

* 本品不含转染用试剂

06

外泌体鉴定

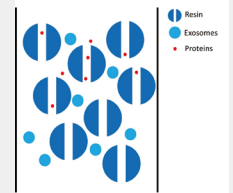
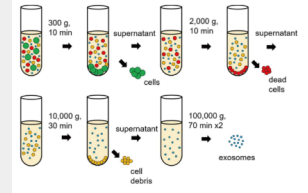
提供外泌体整体服务方案



Dr. Cell

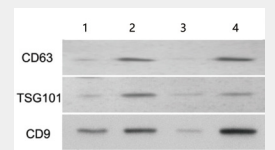
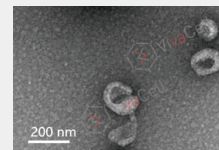
外泌体分离

- 差速超速离心法
- 尺寸排阻与沉降法 (Cell GS Exo-spin™ 提取试剂盒)



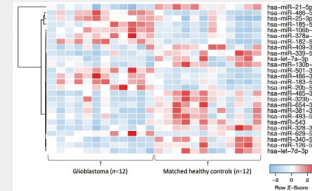
外泌体鉴定

- 纳米粒径跟踪分析 (NTA)
- 透射电镜 (TEM)
- 蛋白标志物检测 (WB)



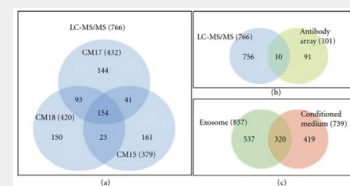
外泌体测序

- miRNA测序
- mRNA芯片
- LncRNA芯片
- ceRNA芯片



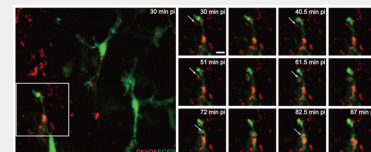
外泌体组学分析

- 蛋白组学分析 (iTRAQ、TMT、Label-free)



外泌体标记/示踪

- 亲脂性染料标记 (PKH67、PKH26、DiO、DiR)
- 慢病毒标记
- 外泌体体外/体内示踪



码上检测

扫描二维码，关注道鹏生物公众号 (xpbiomed)

→进入右下角“检测服务”→轻松下单



REFERENCES

VivaCell 去外泌体血清

- ❖ M1-like macrophage-derived exosomes suppress angiogenesis and exacerbate cardiac dysfunction in a myocardial infarction microenvironment. Liu et al., *Basic Research in Cardiology*, 2020
- ❖ Tumor-Derived EV-Encapsulated miR-181b-5p Induces Angiogenesis to Foster Tumorigenesis and Metastasis of ESCC. Wang et al., *Molecular Therapy: Nucleic Acid*, 2020
- ❖ Aptamer recognition-triggered label-free homogeneous electrochemical strategy for an ultrasensitive cancer-derived exosome assay. Yin et al., *Chem. Commun.*, 2019
- ❖ AMSC-derived exosomes alleviate lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver failure by miR-17-mediated reduction of TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in macrophages. Liu et al., *EBioMedicine*, 2018

FiberCell 中空纤维细胞培养系统

- ❖ Three-dimensional culture of MSCs produces exosomes with improved yield and enhanced therapeutic efficacy for cisplatin-induced acute kidney injury. Cao et al., *Stem Cell Research & Therapy*, 2020
- ❖ Exosomes produced from 3D cultures of umbilical cord mesenchymal stem cells in a hollow-fiber bioreactor show improved osteochondral regeneration activity. Yan et al., *Cell Boil. Toxicol*, 2019
- ❖ Large preparation of extracellular vesicles enriched with specific microRNA. Lu et al., *Tissue Engineering*, 2018
- ❖ Use of a Hollow Fiber Bioreactor to Collect Extracellular Vesicles from Cells in Culture. Yan et al., *Methods Mol Biol.*, 2018
- ❖ Efficient production and enhanced tumor delivery of engineered extracellular vesicles. Watson et al., *Biomaterials*, 2016

Cell GS Exo-spin™ 外泌体提取试剂盒

- ❖ Purity and yield of melanoma exosomes are dependent on isolation method. Yang et al., *Journal of extracellular vesicles*, 2019
- ❖ Cerebrospinal fluid extracellular vesicle enrichment for protein biomarker discovery in neurological disease multiple sclerosis. Welton et al., *Journal of extracellular vesicles*, 2017
- ❖ Colorimetric TMPRSS2-ERG Gene Fusion Detection in Prostate Cancer Urinary Samples via Recombinase Polymerase Amplification. Koo et al., *Theranostics*, 2016
- ❖ The RNA-Binding Protein SYNCRIP Is a Component of the Hepatocyte Exosomal Machinery Controlling MicroRNA Sorting. Santangelo et al., *Cell reports*, 2016

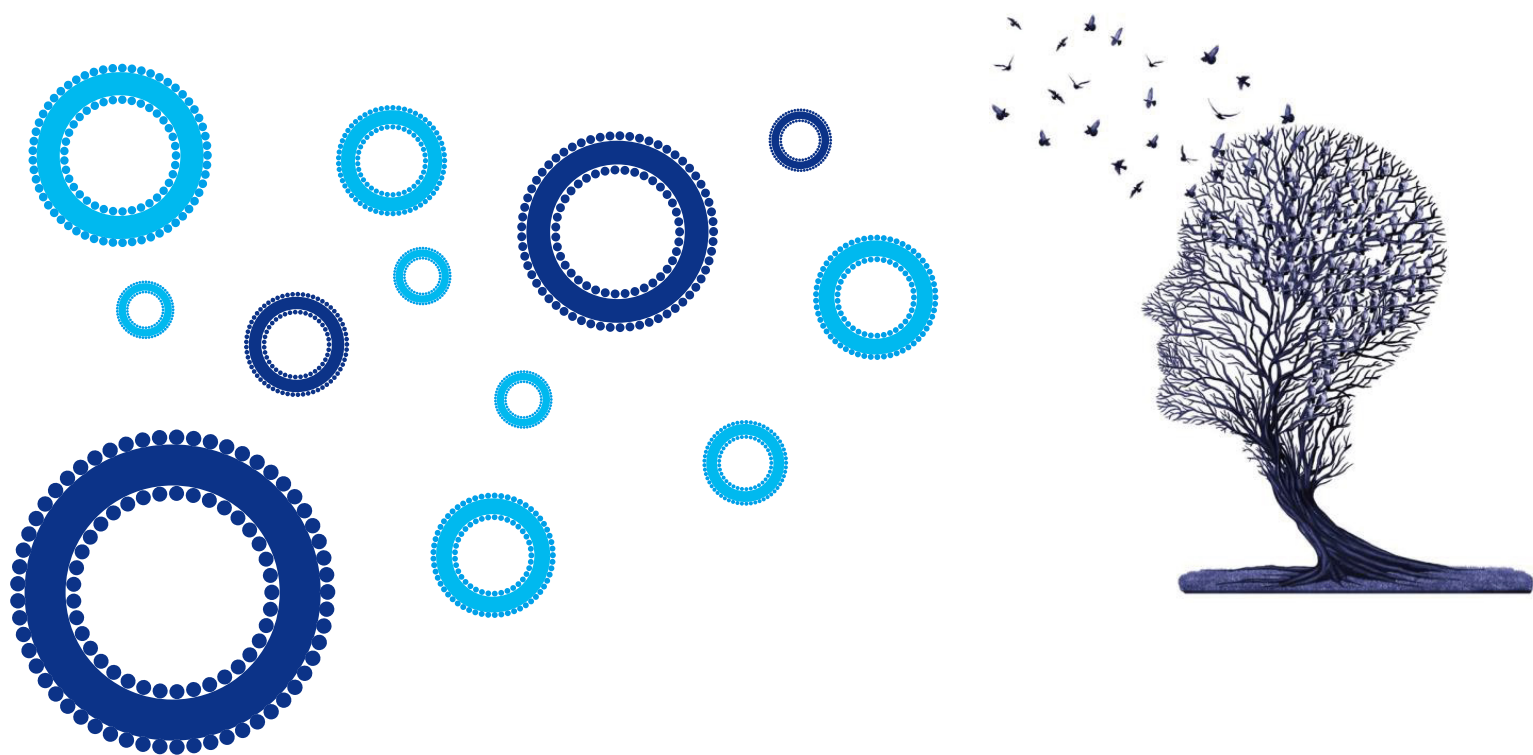
Cell GS 外泌体荧光定量试剂盒

- ❖ Potential of stem cell-derived exosomes to regenerate β islets through Pdx-1 dependent mechanism in a rat model of type 1 diabetes. Mahdipour et al., *Journal of Cellular Physiology*, 2019
- ❖ Promising effects of exosomes isolated from menstrual blood-derived mesenchymal stem cell on wound-healing process in diabetic mouse model. Dalirfardouei et al., *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 2019
- ❖ Confounding factors of ultrafiltration and protein analysis in extracellular vesicle research. Vergauwen et al., *Scientific Reports*, 2017

外泌体技术服务

- ❖ Astrocytes increase exosomal secretion of oligodendrocyte precursor cells to promote their proliferation via integrin $\beta 4$ -mediated cell adhesion. Zhang et al., *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020
- ❖ HPV + HNSCC-derived exosomal miR-9 induces macrophage M1 polarization and increases tumor radiosensitivity. Tong et al., *Cancer Letters*, 2020
- ❖ Extracellular vesicles derived from *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid from patients: isolation, characterization and evaluation of immunomodulatory functions on T cells. Zhou et al., *International Journal for Parasitology*, 2020
- ❖ Exosome-Transmitted lncRNA H19 Inhibits the Growth of Pituitary Adenoma. Zhang et al., *J Clin Endocrinol Metab.*, 2019

Total Solution for EVs Research!



Shanghai XP Biomed Ltd.
上海逸鹏生物科技

电话: +86-21-58785545
邮箱: info@xpbiomed.com
网址: www.xpbiomed.com
地址: 上海市浦东新区祖冲之路1505弄80号1幢3楼



关注逸鹏生物公众号
了解更多最新资讯

V2.0