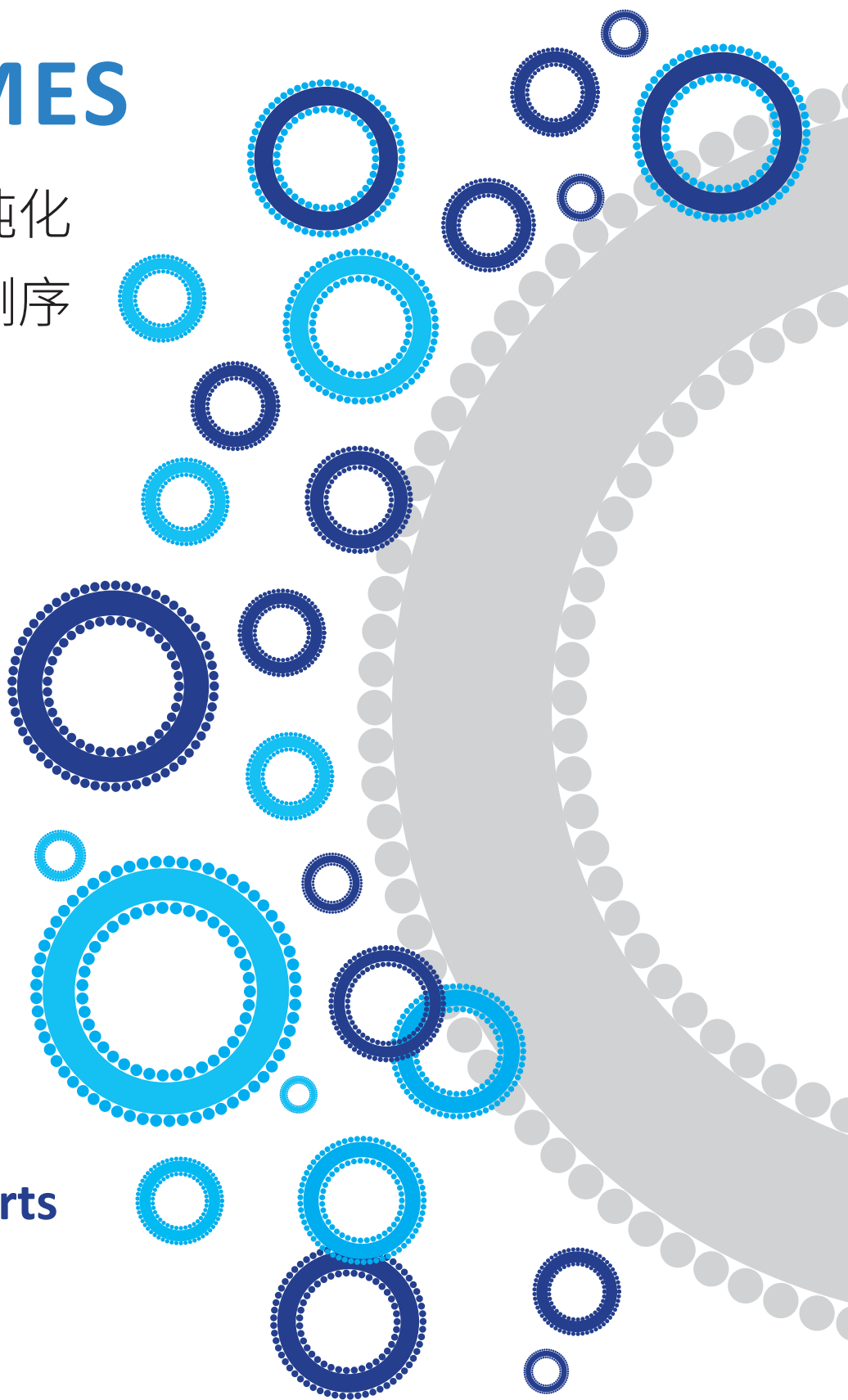


EXOSOMES

外泌体富集 | 纯化
定量 | 鉴定 | 测序

Exosome Experts



CONTENTS

01

外泌体收集

02

外泌体富集

03

外泌体纯化

04

外泌体定量

05

外泌体测序

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。

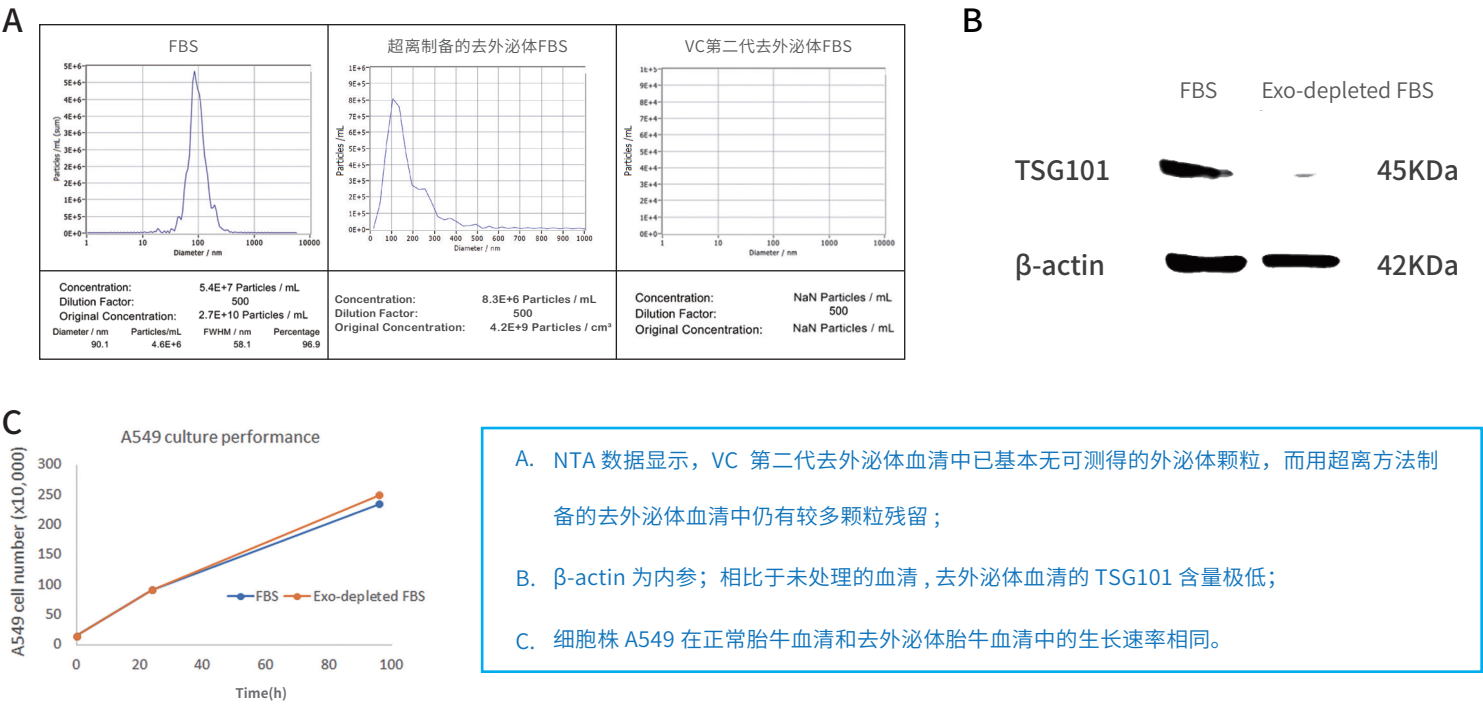
因此,建议在细胞培养过程中,使用无血清体系或去外泌体血清,以保证后续实验的准确性。

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≥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



订购信息

货号	名称	规格
C3801-0050	Exosome Depleted Fetal Bovine Serum	50 mL
C3801-0100	Exosome Depleted Fetal Bovine Serum	100 mL

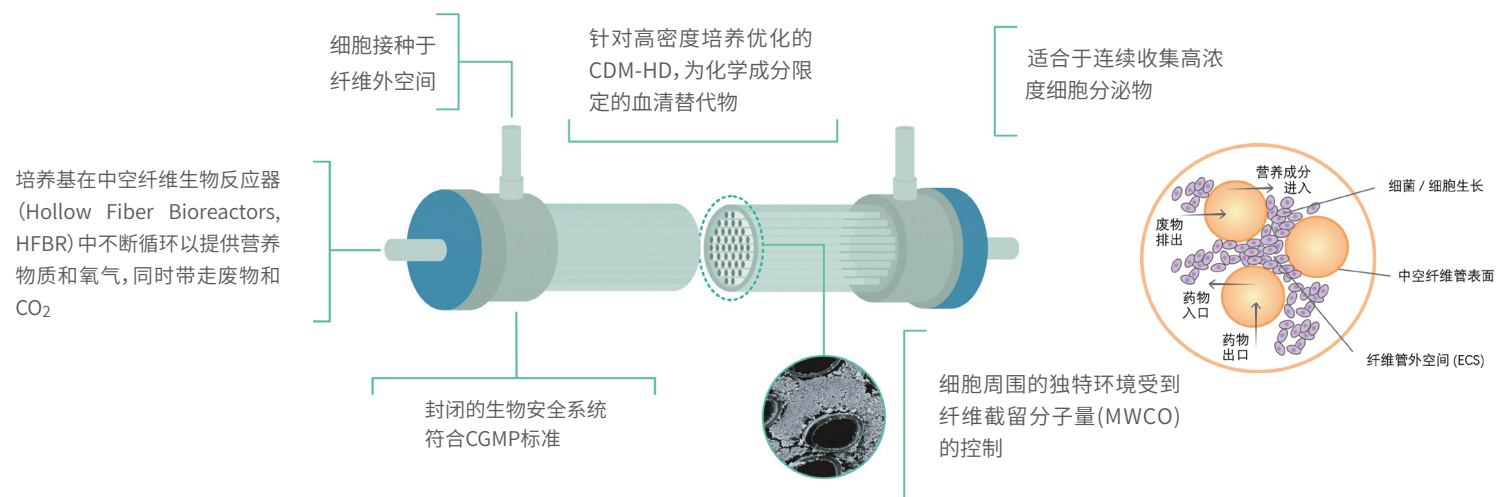
FiberCell 中空纤维细胞培养系统介绍

美国FiberCell Systems公司由John Cadwell于2000年3月创立。FiberCell系统采用全新、先进的高过滤速率的纤维，具有更快速物质交换，适合更高密度的细胞/细菌培养，为细胞/细菌提供更类似体内的生长环境。

FiberCell公司在欧洲设有制造工厂，并与马里兰大学合作拥有实验室，FiberCell公司还是美国宇航局 (NASA) 国际空间站细胞培养系统的供应商。

FiberCell 工作原理

- 双向泵、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。
- 中空纤维作用类似于微血管，单个纤维直径大约200 μm，并可选择不同通透率的纤维。
- 培养基流经中空纤维内部，而细胞培养在纤维内或外空间；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。
- 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聚集在小体积的ECS (Extracellular Space, 纤维管外空间) 中，浓度可高于平板或滚瓶培养10-100倍。



FiberCell 优势介绍

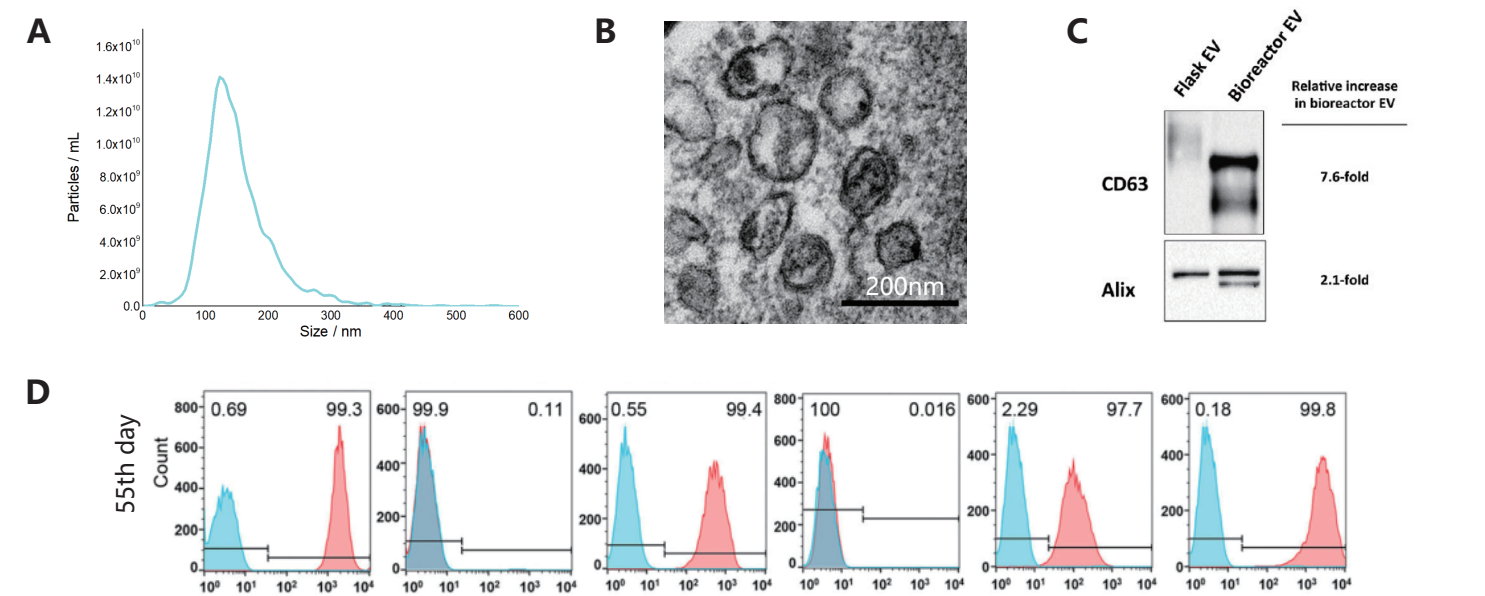
FiberCell 中空纤维细胞培养密度可达到 $1 \times 10^8/\text{mL}$ ，高密度细胞培养具有独特的优势：

- 降低细胞对血清的要求
- 易于适应无血清培养
- 增加细胞分泌产物浓度10-100倍
- 在高密度生长条件下，细胞拥有更类似于体内细胞生长方式 (more *in-vivo* like)
- 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 (高达 10^{11})

FiberCell 用于外泌体富集

中空纤维细胞培养系统是干细胞与293细胞等生产外泌体的理想反应器。由于外泌体不能透过纤维,可收获高浓度的外泌体,并且细胞碎片显著降低。外泌体还能长时间持续收获,保持活性不变。

使用培养瓶生产外泌体时,需加入血清,因而存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。



中空纤维培养系统富集的外泌体,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培养瓶培养,中空纤维培养系统可以更有效富集外泌体(C);中空纤维培养系统中培养55天的hUC-MSCs表面标记物的流式分析(D)。

3D 中空纤维培养与 2D 培养瓶培养比较

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培养瓶	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

*以上数据仅供参考

03 外泌体纯化

Exo-spin™ 外泌体纯化

● 产率高，纯度高

获得的外泌体样本含超低
蛋白质与 rRNA 污染

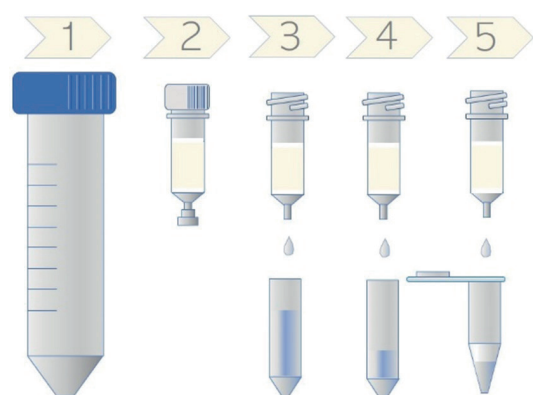
● 无超速离心步骤

结果可重复

● 简单可靠

分离完整的外泌体用于下
游功能研究

Exo-spin™ 外泌体分离纯化步骤



第一步： 去除细胞和细胞碎片

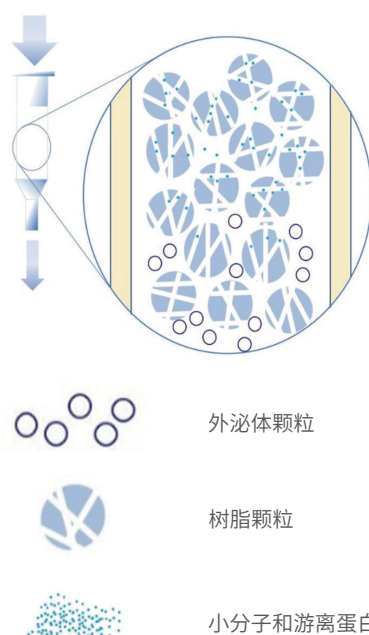
第二步： 如需要，使用 Exo-spin™ 沉淀剂沉淀外泌体

第三步： 用 PBS 平衡纯化 Exo-spin™ 管柱

第四步： 向 Exo-spin™ 管柱中添加预处理的样本或经沉淀后 PBS 重悬的样本，洗脱和弃去废液

第五步： 向 Exo-spin™ 管柱中添加 PBS 洗脱并获得外泌体样本

尺寸排除色谱法原理

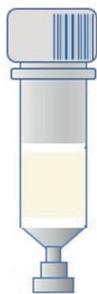


订购信息

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™ mini 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
EX07-96	Exo-spin™ 96	高通量外泌体提取试剂盒 30分钟可完成96个样本的外泌体分离

产品分类

Exo-spin™ mini columns



● 操作简单

两小时内完成一致性和可靠的样本纯化

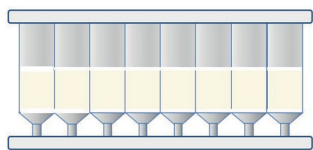
● 血液样本纯化

可直接从血清或血浆样本中分离外泌体

● 单管可处理 50 mL 的样本

联合使用 Exo-spin™ Buffer 可最多处理 50 mL 的低蛋白含量生物液体

Exo-spin™ 96



● 96 孔板形式

将 Exo-spin™ mini columns 技术整合到高通量系统中

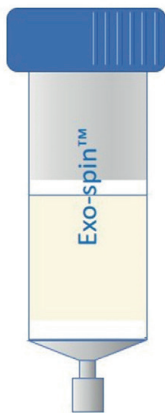
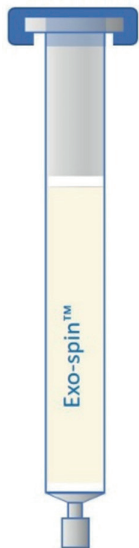
● 一次可处理 8-96 个样本

可灵活拆卸为单条含 8 个样本的管柱进行使用

● 重力分离

分离纯化步骤无需特殊的仪器设备

Exo-spin™ mini-HD and midi columns



● 高效分离方法

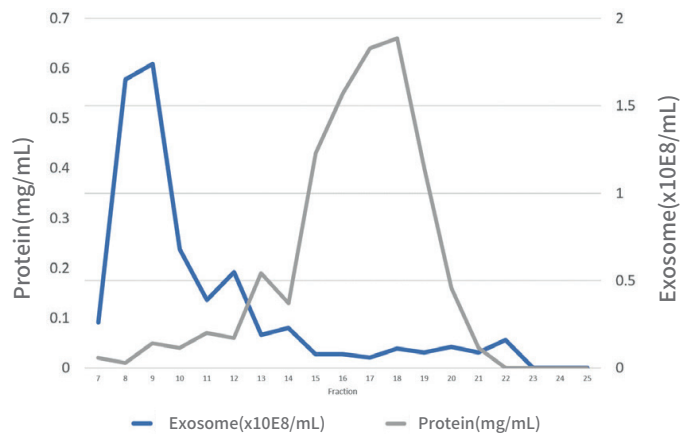
优化产量和纯度，收集更纯的组分

● 样本处理体积大

可最多处理 500 mL 低蛋白含量的生物液体或 1 mL 血液样本

外泌体提取案例

Exo-spin™ midi columns 可通过重力方法从含大量蛋白质的样本中分离外泌体。



使用 Exo-spin™ midi columns (货号 EX04) 从人乳腺癌细胞产生的 60 mL 细胞上清中分离纯化外泌体。收集组分 (每个组分 500 μ L) 进行分析，(1) 检测颗粒浓度 (2) 测量 280 nm 的吸光度值以评估蛋白质浓度。

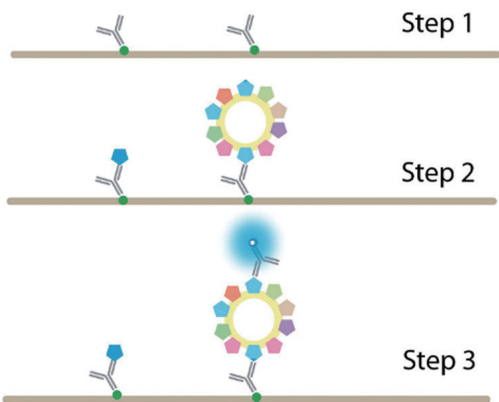
04 外泌体定量

ExoLISA™ 外泌体定量检测试剂盒

精准灵敏的标记时间分辨免疫荧光检测外泌体标志物

- 简单
检测方法简单，结果清晰，重复性良好
- 灵敏度高
使用标记的抗体检测
- 特异性
仅检测到以多拷贝显示的抗原

ExoLISA™ 检测原理

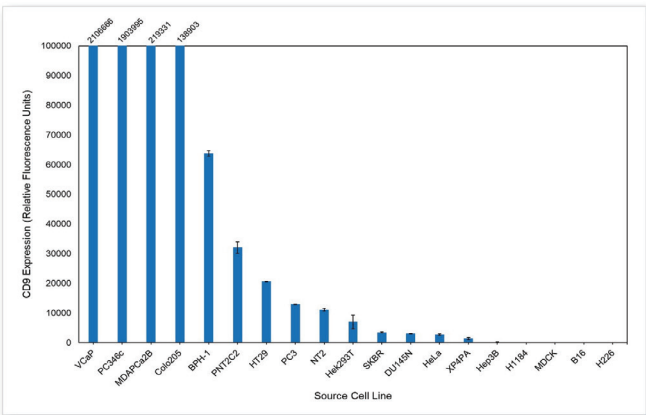


- 第一步**
生物素化抗体与链霉亲和素包被的检测板结合。
- 第二步**
加入生物样本。外泌体和游离的抗原都被抗体捕获。
- 第三步**
加入标记的抗体，可与外泌体抗原特异性结合。游离抗原不与标记的抗体结合（因为表位已经被占据而不被检测到）。以时间分辨荧光分析仪观察结果，如 BMG LABTECH 多功能酶标仪 PHERAstar FSX 等。

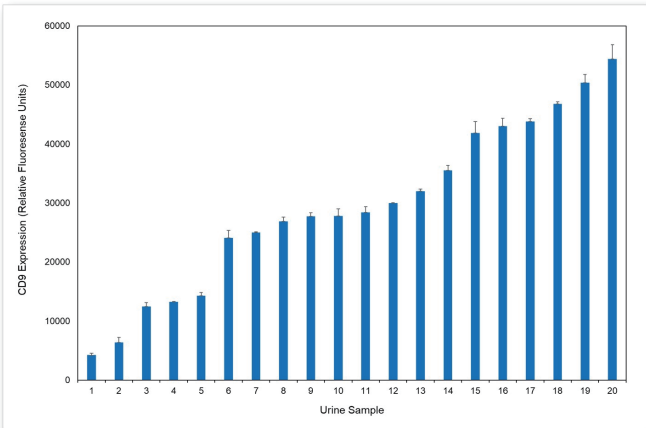
订购信息

货号	描述	规格
EX501	CD9表达蛋白使用	96 assays
EX502	CD63表达蛋白使用	96 assays
EX503	CD81表达蛋白使用	96 assays
EX-P31	Wash Buffer (Concentrate 25x)	20 mL

ExoLISA™ 样本分析



CD9 ExoLISA™ 试剂盒可用于检测多种细胞系的外泌体，对于人源样本有特异性。来源于狗的 MDCK 和小鼠 B16 细胞系则测不出数据。



20 个尿液样本的 ExoLISA™ 外泌体分析显示样本之间的 CD9 含量存在很大差异。

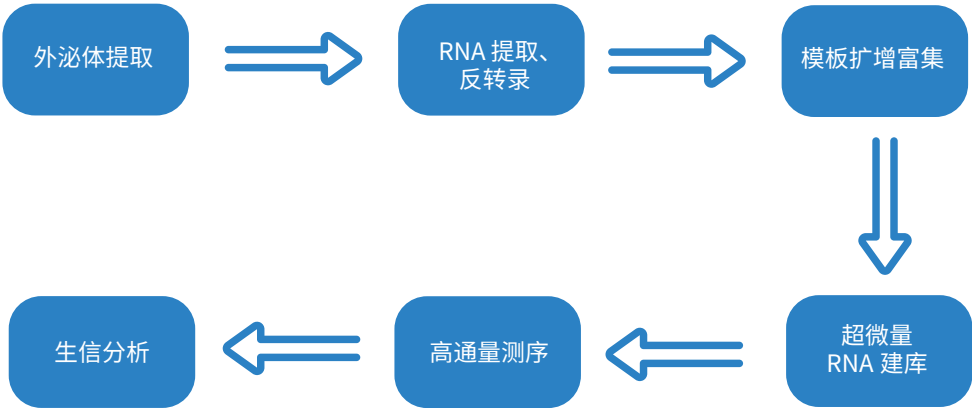
05

外泌体测序

高通量测序 & 蛋白质组学



外泌体 RNA 测序



应用

- 分子标志物开发
- 机理研究，肿瘤微环境、靶标调控
- 临床研究，疾病诊断、预后跟进

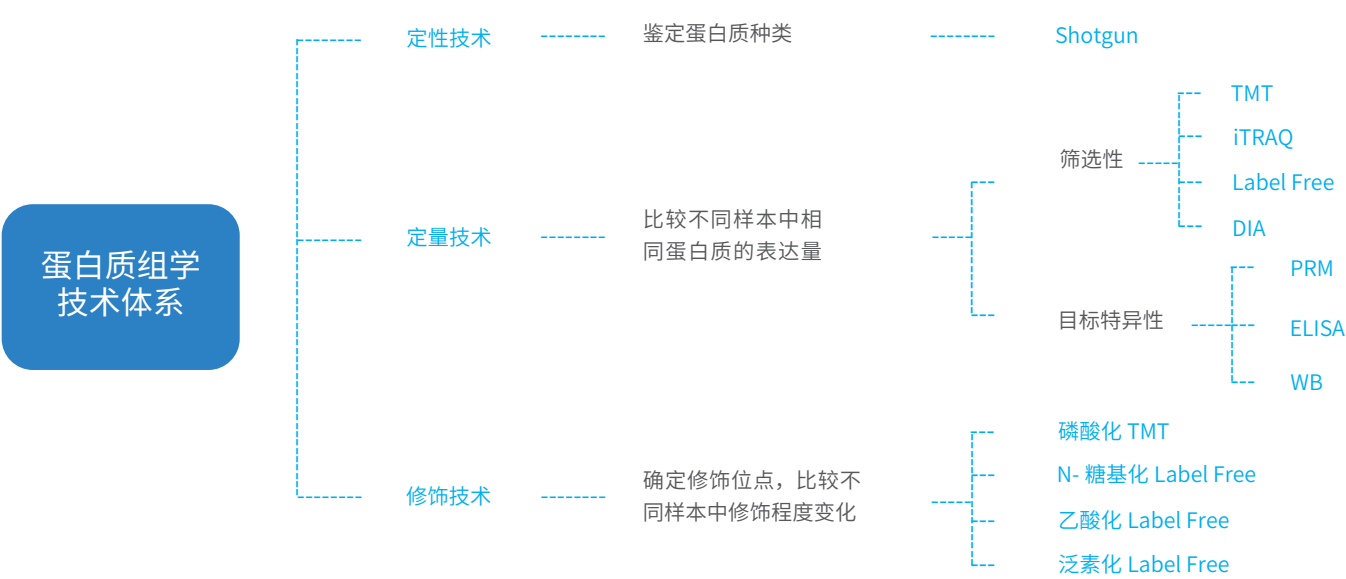
样本来源：人、鼠、牛、细菌等

组织部位：血清、血浆、细胞上清、尿液、乳汁等

研究疾病：乳腺癌、前列腺癌、肺癌、肾癌等

RNA 类型：miRNA、lncRNA、circRNA、mRNA

外泌体蛋白质组学



06

外泌体鉴定

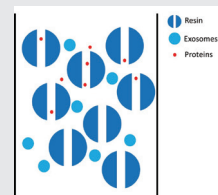
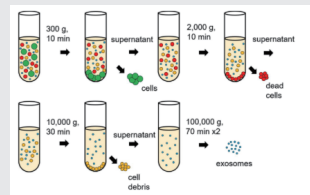
外泌体整体服务方案



Dr. Cell

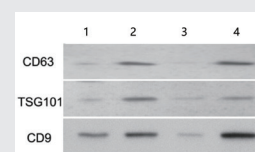
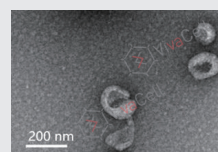
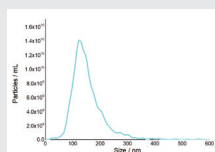
外泌体分离

- 差速超速离心法
- 沉淀法与尺寸排除法 (Cell GS Exo-spin™ 提取试剂盒)



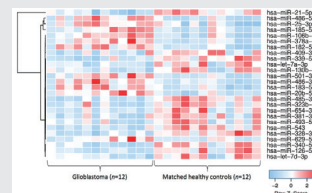
外泌体鉴定

- 粒径、浓度 (NTA)
- 透射电镜 (TEM)
- 蛋白标志物检测 (WB)



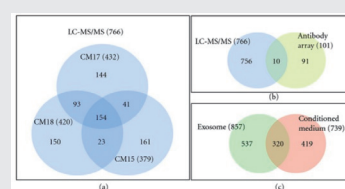
外泌体测序

- miRNA测序
- mRNA测序
- lncRNA测序
- circRNA测序



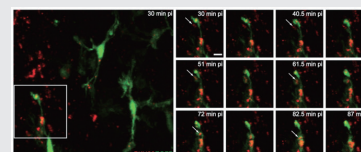
蛋白质组学

- 定性技术 (Shotgun)
- 定量技术 (TMT, iTRAQ, Label Free, DIA)
- 修饰技术 (磷酸化、糖基化、乙酰化、泛素化)



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

- ❖ Hu Y, Wu B, Xiong Y, *et al.* Cryogenic 3D printed hydrogel scaffolds loading exosomes accelerate diabetic wound healing. *Chemical Engineering Journal*. 2021, 426: 130634
- ❖ Yu L, Sui B, Fan W, *et al.* Exosomes derived from osteogenic tumor activate osteoclast differentiation and concurrently inhibit osteogenesis by transferring COL1A1-targeting miRNA-92a-1-5p. *J Extracell Vesicles*. 2021 Jan; 10(3): e12056
- ❖ Hu Y, Tao R, Chen L, *et al.* Exosomes derived from pioglitazone-pretreated MSCs accelerate diabetic wound healing through enhancing angiogenesis. *J Nanobiotechnology*. 2021 May 21; 19(1): 150
- ❖ Deng Z, Wang J, Xiao Y, *et al.* Ultrasound-mediated augmented exosome release from astrocytes alleviates amyloid- β -induced neurotoxicity. *Theranostics*. 2021 Feb 25; 11(9): 4351-4362

FiberCell 中空纤维细胞培养系统

- ❖ Moya-Torres A, Gupta M, Heide F, *et al.* Homogenous overexpression of the extracellular matrix protein Netrin-1 in a hollow fiber bioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2021 Aug; 105(14-15): 6047-6057
- ❖ Binzel DW, Guo S, Yin H, *et al.* Rational design for controlled release of Dicer-substrate siRNA harbored in phi29 pRNA-based nanoparticles. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2021 Aug 8; 25: 524-535
- ❖ Ruth MM, Raaijmakers J, van den Hombergh E, *et al.* Standard therapy of Mycobacterium avium complex pulmonary disease shows limited efficacy in an open source hollow fibre system that simulates human plasma and epithelial lining fluid pharmacokinetics. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Jul 28; S1198-743X(21)00407-9
- ❖ Sadouki Z, McHugh TD, Aarnoutse R, *et al.* Application of the hollow fibre infection model (HFIM) in antimicrobial development: a systematic review and recommendations of reporting. *J Antimicrob Chemother*. 2021 Aug 12; 76(9): 2252-2259

Cell GS Exo-spin™ 外泌体提取试剂盒

- ❖ Matys MSS, Aigner C, Schulz SMM, *et al.* Isolation of Small Extracellular Vesicles from Human Sera. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 28; 22(9): 4653
- ❖ Samoylenko A, Kögler M, Zhyvolozhnyi A, *et al.* Time-gated Raman spectroscopy and proteomics analyses of hypoxic and normoxic renal carcinoma extracellular vesicles. *Sci Rep*. 2021 Oct 1; 11(1): 19594
- ❖ Hekmatirad S, Moloudizargari M, Moghadamnia AA, *et al.* Inhibition of Exosome Release Sensitizes U937 Cells to PEGylated Liposomal Doxorubicin. *Front Immunol*. 2021 Jun 4; 12: 692654
- ❖ Tzaridis T, Bachurski D, Liu S, *et al.* Extracellular Vesicle Separation Techniques Impact Results from Human Blood Samples: Considerations for Diagnostic Applications. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 26; 22(17): 9211

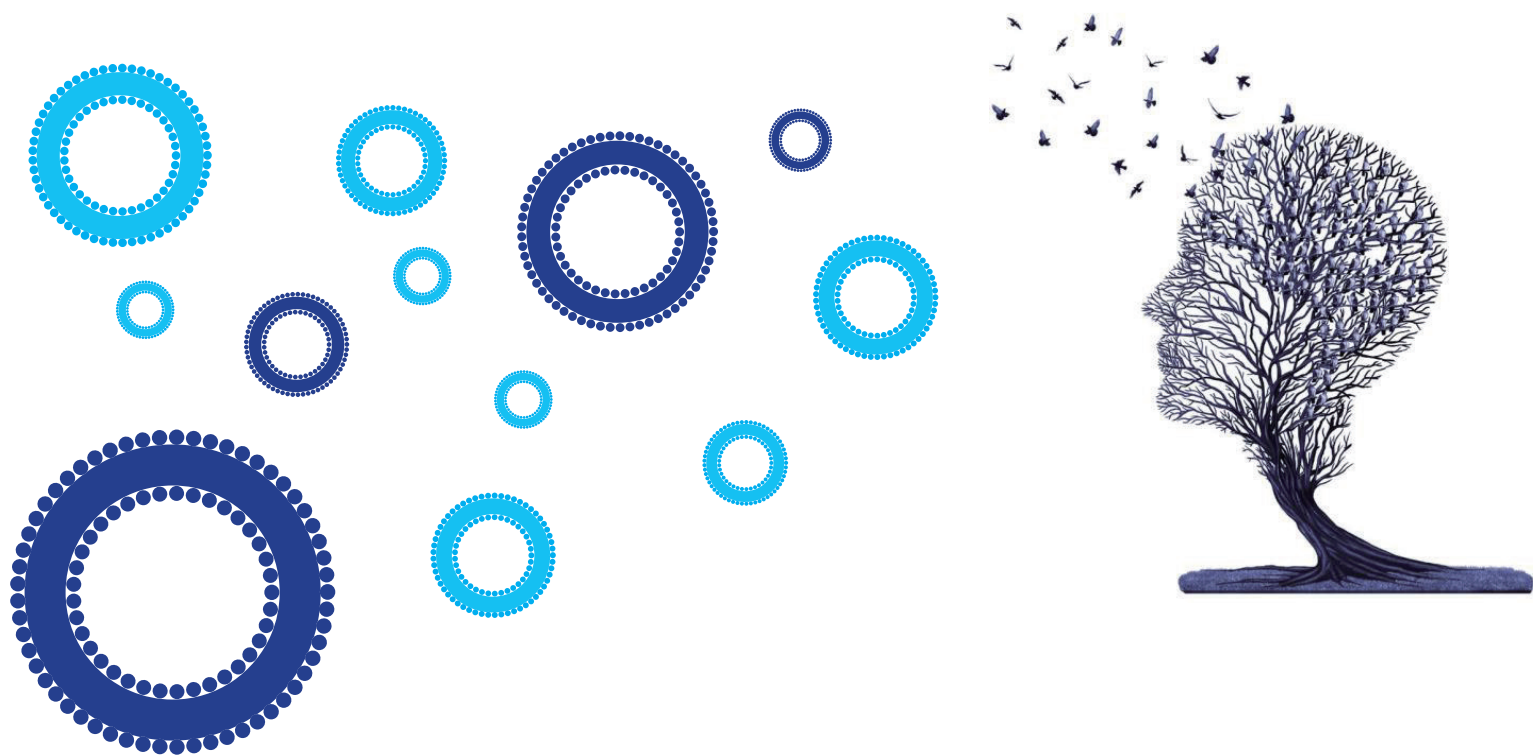
Cell GS 外泌体荧光定量试剂盒

- ❖ Kaban K, Hinterleitner C, Zhou Y, *et al.* Therapeutic Silencing of BCL-2 Using NK Cell-Derived Exosomes as a Novel Therapeutic Approach in Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(10): 2397
- ❖ Mahdipour E, Salmasi Z, *et al.* Potential of stem cell-derived exosomes to regenerate β islets through Pdx-1 dependent mechanism in a rat model of type 1 diabetes. *J Cell Physiol*. 2019 Nov; 234(11): 20310-20321
- ❖ Dalirfardouei R, Jamialahmadi K, Jafarian AH, *et al.* Promising effects of exosomes isolated from menstrual blood-derived mesenchymal stem cell on wound-healing process in diabetic mouse model. *J Tissue Eng Regen Med*. 2019 Apr; 13(4): 555-568

外泌体技术服务

- ❖ Wu Y, Yu Q, Zhang M, *et al.* Hemin-primed dendritic cells suppress allergic airway inflammation through releasing extracellular vesicles. *J Leukoc Biol*. 2021 Jul 23
- ❖ Jin MH, Yu NN, Jin YH, *et al.* Peroxiredoxin II with dermal mesenchymal stem cells accelerates wound healing. *Aging (Albany NY)*. 2021 May 24; 13(10): 13926-13940
- ❖ Zhang W, Zhang X, Zhang L, *et al.* Astrocytes increase exosomal secretion of oligodendrocyte precursor cells to promote their proliferation via integrin β 4-mediated cell adhesion. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 May 28; 526(2): 341-348
- ❖ Tong F, Mao X, Zhang S, *et al.* HPV + HNSCC-derived exosomal miR-9 induces macrophage M1 polarization and increases tumor radiosensitivity. *Cancer Lett*. 2020 May 28; 478: 34-44

Total Solution for EVs Research!



XIP BioMed
逍 鹏 生 物

电话: +86-21-58785545

邮件: 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



关注逍鹏生物公众号
了解更多最新资讯

V2.2