

293F 外泌体参考品说明书

Cat#CTE-06

一、详情

293F 外泌体是由来源清晰的 HEK293F 细胞,通过无血清培养获得上清液后经切向流过滤(TFF)、复合/多模式层析方法分离获得的高纯度外泌体颗粒,可用于工程化改造、蛋白或核酸分析、实验对照等。

二、用途

- 实验流程参考品:
 - 外泌体鉴定实验,如透射电子显微镜(Transmission Electron Microscope, TEM)、粒径分布检测(纳米流式 NanoFCM 或 Nanoparticle Tracking Analysis, NTA)、标志物 Western Blot 等研究的参考品
 - 外泌体组学实验,如蛋白质谱、RNA 组学、代谢组学等组学研究的参考品
 - 外泌体内含物验证,如 WB、qPCR、ELISA 等研究的参考品
- 功能学实验阴性对照:靶向和/或负载等工程化改造外泌体的阴性参考对照
- 靶向改造:直接用于靶向肽脂锚连接,用于获得具有靶向性的外泌体
- 负载改造:直接用于电穿孔、ExoLoad[®]、ExoBrooch[®]等负载改造,用于获得目的分子负载的外泌体

三、参数

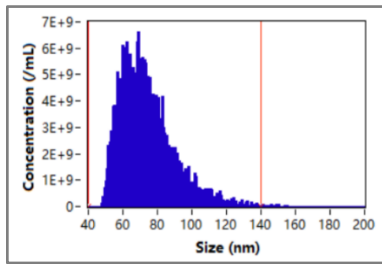
编号	参数项	参数结果
1	外观	透明液体
2	pH	6.8-7.4
3	无菌检测	阴性
4	颗粒浓度	≥3E+11 Particles/mL (NanoFCM)
5	颗粒粒径分布	30-150 nm (NanoFCM)
6	总蛋白浓度	≤10.0 μg/μL (BCA)
7	纯度	≥3E+11 Particles/mg
8	形态检测	清晰的囊泡结构 (TEM)
9	外泌体蛋白标志物 WB 检测	3 阳 1 阴 (WB)

四、保存

内容	冻存
形式	液体
溶剂	海藻糖等保护剂
运输	干冰运输
保存	-80°C
使用建议	冰上解冻,使用前震荡混匀
保存时间	18 个月
注意事项	1. 避免反复冻融,因外泌体的固有属性,其颗粒数会随着保存时间的延长而下降,所以需尽快使用 2. 外泌体保护剂虽然可提高外泌体保存的稳定性,但会影响蛋白浓度检测(BCA),建议直接使用出厂蛋白浓度。若需重新 BCA 定量,需将样品用磷酸盐缓冲液等实验室常规缓冲液进行换液,再进行蛋白浓度测定(产品颗粒数以出厂数据为准)

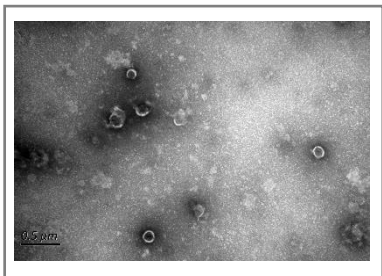


五、图片



293F 外泌体参考品 NanoFCM 表征

通过 NanoFCM 检测外泌体的粒径分布和颗粒浓度。提前准备好浓度标准品、粒径标准品、空白对照和实验样品，按照使用说明，对纳米流式仪进行液流初始化和管路气泡排除。首先用超纯水将浓度/粒径分布标准品稀释合理倍数，按照纳米流式仪操作规程进行纳米流式仪的质控，将纳米流式仪调试到最佳检测状态后（散射和荧光通道的信号均达到最强且均一），采用浓度标准品，校准仪器的浓度测试状态，采用粒径分布标准品，校准仪器的粒径分布的测试状态；按照仪器操作说明，依次用超纯水和洗液清洗进样毛细管。在纳米流式仪 LabelledExo 样品测量模式下检测复合缓冲液的颗粒数用于空白对照，复合缓冲液作为后续样品的稀释溶剂，在使用前需用 0.22 微米滤膜过滤。外泌体样品用复合缓冲液预稀释合适的倍数，在纳米流式仪中进行样品数据采集，测定样本的颗粒浓度及粒径分布。



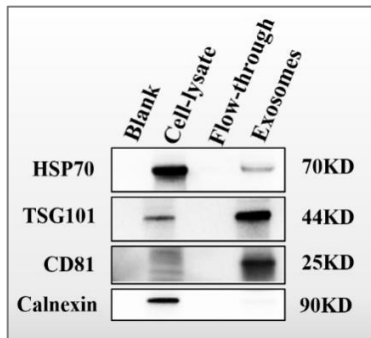
293F 外泌体参考品 TEM 表征

透射电子显微镜观察法（TEM）是在高倍放大下直接观察单个外泌体的形态结构和大小。

对外泌体的形态和大小进行鉴定。通过透射电子显微镜可以看到 293F 外泌体参考品呈现清晰的囊泡结构。

电镜制样：PBS 和负染液分别经膜过滤和离心前处理；外泌体浓度控制在 300ng/μl，用负染液进行负染后置于铜网上；吸干铜网上的液体后在电镜拍照检测。

检测仪器：Hitachi 日立 H-7650 透射电子显微镜



293F 外泌体参考品 WB 检测

通过 Western Blot 方法检测外泌体三阳一阴标志物的表达。

细胞裂解液作为阳性对照。首先裂解细胞，RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂（100×）混合比例为 100:1。采用 BCA 方法测定总蛋白浓度。细胞裂解蛋白和外泌体分别加入 5X loading buffer（4:1），后沸水浴煮蛋白至变性，制胶，或直接购买预制胶，等蛋白上样量约为 20 μg，电泳，先 80V 后 120V，根据需要的分子量是否跑开决定时间，跑开后转膜，封闭 1h，孵一抗和二抗，然后 TBST 溶液清洗，最后化学发光显色（化学发光 A/B 液=1: 1）。

泳道 Blank: 空白泳道
泳道 Cell-lysate: 293F 细胞
泳道 Flow-through: 外泌体提取超滤时的流穿液
泳道 Exosomes: 293F 外泌体参考品

该产品仅供科研使用。使用该产品遇到任何问题，欢迎邮件咨询：techservice@ecbobiotech.com

