

293F 外泌体标准品说明书

Cat#CTE-062

一、详情

293F 外泌体标准品是由来源清晰的 HEK293F 细胞，通过无血清培养获得上清液后，经切向流超滤 (TFF)、密度梯度离心 (DGC) 分离纯化获得的超高纯度外泌体颗粒，可用于外泌体表征标准品或对照品等。

二、用途

用于外泌体表征的标准品或对照品，包括但不限于：

外泌体形态观察（透射电子显微镜，TEM）、粒径分布检测（纳米流式，NanoFCM；或 Nanoparticle Tracking Analysis, NTA）、外泌体标志物检测（Western Blot, WB）、Zeta 电位测定等研究用标准品或对照品。

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	$\geq 3E+11$ Particles/mL (NanoFCM)
5	颗粒粒径分布	30-150 nm (NanoFCM)
6	总蛋白浓度	≤ 10.0 μ g/ μ L (BCA)
7	纯度	$\geq 5E+11$ Particles/mg
8	形态检测	清晰的囊泡结构 (TEM)
9	外泌体蛋白标志物	3 阳 1 阴 (WB)

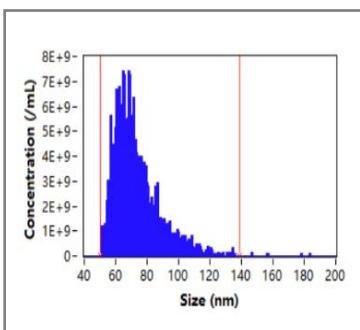
四、保存

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	$\leq -65^{\circ}\text{C}$
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 PBS 等实验室常规缓冲液进行换液，再进行蛋白浓度测定。 3. 恩泽康泰 ContrExo®外泌体产品，以 NanoFCM(厦门福流生物)自检测的颗粒浓度和粒径结果作为出厂标准，不同检测平台原理不同检测数据不同是正常现象，不接受以其他平台检测结果颗粒数或粒径范围不符为由进行退换货，请知悉；如您想进行自有或第三方的 NanoFCM 复测，请联系售后技术支持邮寄 NanoFCM



检测稀释液，该稀释液只适用于厦门福流生物 NanoFCM 颗粒浓度和粒径分布检测时，对样本进行稀释后上样 NanoFCM 检测，可达到更好的分散作用，维持外泌体样本 NanoFCM 检测稳定性，以还原真实的外泌体颗粒数和粒径分布。

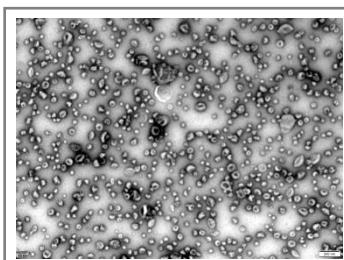
五、图片



293F 外泌体标准品 NanoFCM 检测

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，按照设备使用说明，对纳米流式仪进行液流初始化和管路气泡排除。使用超纯水将浓度/粒径分布标准品稀释合理倍数，按照纳米流式仪器操作规程进行操作，将纳米流式仪调试到最佳检测状态（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“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，在使用前需经 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤。用复合缓冲液将外泌体样品稀释至合适的倍数，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。



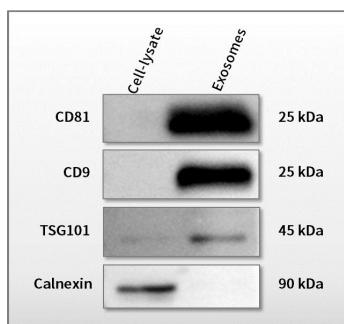
293F 外泌体标准品 TEM 检测

利用透射电子显微镜观察法（TEM）观察单个外泌体的形态结构和大小。

通过透射电子显微镜可以看到 293F 外泌体标准品呈现清晰的囊泡结构（TEM）。

检测仪器：日本电子 JEOL,JEM-2100Plus

电镜制样：PBS 和负染液分别经膜过滤和离心前处理；外泌体总蛋白浓度（BCA）控制在 $300\sim500\text{ ng}/\mu\text{L}$ ，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仪上拍照检测。



293F 外泌体标准品的 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（ $100\times$ ）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 $5\times$ 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 $4\text{ }\mu\text{g}$ ，电泳，先 80 V 后 120 V ，根据目标蛋白的分子大小确定适宜的电泳时间，电泳分离后进行转膜，封闭 1 h ，孵育一抗和二抗，然后 TBST 溶液清洗，最后化学发光显色（化学发光 A/B 液=1:1）。

该产品仅供科研使用。使用该产品遇到任何问题，欢迎邮件/电话咨询。

