

HUMSC 外泌体说明书

Cat#CTE-052

一、详情

HUMSC 外泌体是由脐带间充质干细胞（Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell, HUMSC），经 3D 培养获得上清液通过切向流过滤（Tangential Flow Filtration, TFF）分离获得的外泌体颗粒。

二、用途

各类疾病模型的组织修复或治疗相关的功能机制研究。

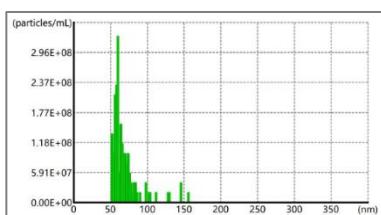
三、参数

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	无菌生长
4	颗粒浓度	$\geq 2 \times 10^{11}$ Particles/ml
5	颗粒粒径分布	30-150 nm
6	总蛋白浓度	/ (BCA)
7	形态检测	清晰的囊泡结构 (TEM)
8	外泌体蛋白标志物	3 阳 1 阴 (WB)
9	外泌体抗炎活性检测	炎症因子表达检测
10	外泌体促修复活性	促进成纤维细胞的迁移

四、保存

内容	冻存状态
形式	液体
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	12 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. 恩泽康泰 ContrExo®外泌体产品，以 RPS(Nanocoulter I 纳米库尔特粒度仪)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；

五、图片

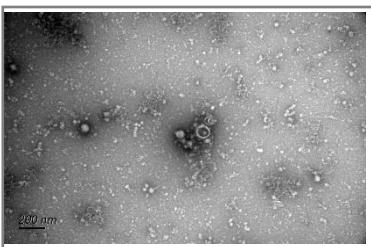


HUMSC 外泌体的 PRS 表征

通过 RPS 检测外泌体的粒径分布和颗粒浓度。

提前准备好稀释液和待测样品（待测样品需要用 0.22 微米滤膜过滤），按照使用说明安装检测卡及芯片，使用扫描枪扫描芯片上的二维码录入芯片信息。首先进行稀释液的测试，稀释液检测结果颗粒数小于 10 个颗粒，说明芯片、组件、仪器都处于正常运行状态，方可进行样品检测。使用稀释液将样品稀释合适的倍数后，加液到检测卡中进行样品的检测。样品颗粒通过芯片的纳米孔会引起通路的电阻变化，形成相应的电阻脉冲，脉冲的高度与颗粒大小成正比，单位时间内的脉冲数目与样品浓度成正比，进而测得样品的粒径分布和颗粒浓度。



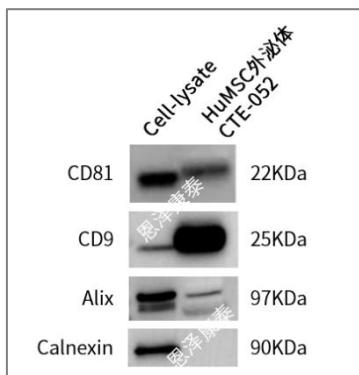


透射电子显微镜观察法(TEM)是在高倍放大下直接观察单个外泌体的形态结构和大小。对外泌体的形态和大小进行鉴定，通过透射电子显微镜可以看到外泌体呈现清晰的囊泡结构。

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

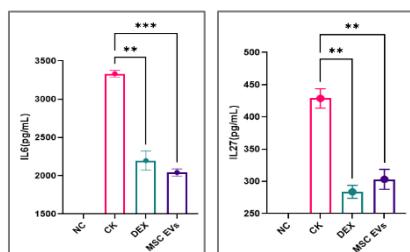
HUMSC 外泌体的 TEM 表征



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 5× 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 30-50μg，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）。

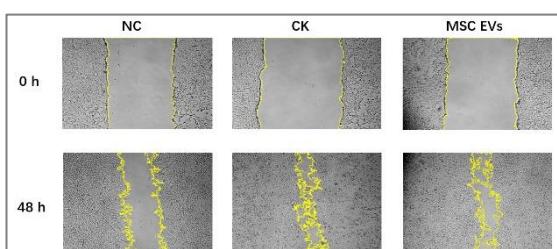
HUMSC 外泌体的 WB 表征



HUMSC外泌体对IL-6 (左) 、IL-27 (右) 基因表达的影响

干细胞外泌体的抗炎活性检测。

RAW264.7 细胞以 1.5×10^5 cells/孔铺于 24 孔板，贴壁过夜。NC 为未诱导细胞。其他组均加入 100 ng/mL LPS 用于构建炎症模型，阴性对照组 CK 仅加入 LPS，阳性对照组额外加入 10 μM Dexacortal (DEX)，外泌体处理组额外加入 8.48×10^{10} Particles/mL MSC EVs，共培养 24 h。收集细胞上清，1000 g 离心 5 min，取上清 -80 °C 保存。ELISA 检测炎症相关细胞因子 IL-6、IL-27 分泌情况。



干细胞外泌体的促修复活性检测。

小鼠胚胎成纤维细胞 3T3 以 4×10^5 cells/孔铺于 12 孔板，过夜培养。2%FBS 低血清培养基预处理 3 h，枪头竖直划下 3 条划痕 (左中右各一条)。划痕后，PBS 洗三次，阴性对照组 (NC) 为未处理细胞，对照组 (CK) 加入 5 ng/mL TGF-β，外泌体组 (MSC EVs) 加入 8.48×10^{10} Particles/mL MSC EVs。0 h、48 h 进行拍照。

HUMSC外泌体的促修复活性检测

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。

