

# 293F 外泌体参考品说明书

## Cat#CTE-06 (P)

### 一、详情

293F 外泌体是由来源清晰的 HEK293F 细胞，通过无血清悬浮培养获得上清液后，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

#### 1. 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

#### 2. 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

#### 3. 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

#### 4. 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

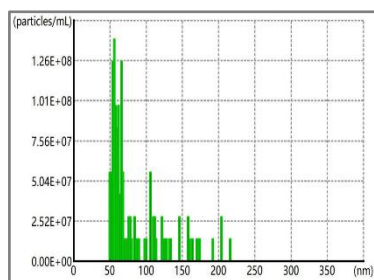
| 编号 | 参数项            | 参数结果                               |
|----|----------------|------------------------------------|
| 1  | 外观             | 透明液体                               |
| 2  | pH             | 6.8-7.4                            |
| 3  | 无菌检测           | 阴性                                 |
| 4  | 颗粒浓度           | $\geq 3E+11$ Particles/mL (RPS)    |
| 5  | 颗粒粒径分布         | 30-150 nm (RPS)                    |
| 6  | 总蛋白浓度          | $\leq 10.0$ $\mu$ g/ $\mu$ L (BCA) |
| 7  | 纯度             | $\geq 3E+11$ 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   | PBS                                                                                                                                                                                           |
| 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 | 12 个月                                                                                                                                                                                         |
| 注意事项 | <p>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。</p> <p>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；</p> |



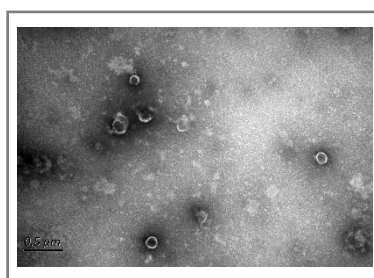
## 五、图片



293F 外泌体参考品 RPS 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。



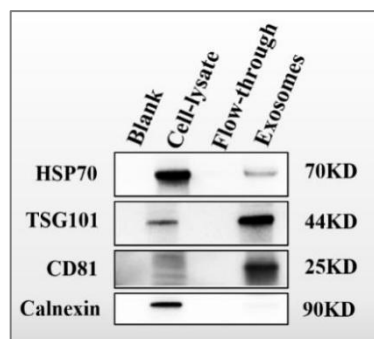
293F 外泌体参考品 TEM 表征

### 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，外泌体上样量约为 10-15 μl，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/电话咨询。

