

293F 外泌体参考品说明书

Cat#CTE-061 (B)

一、详情

293F 外泌体参考品是由来源清晰的 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[®]、ExoCoupl[®]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	$\geq 2E+11$ Particles/mL
5	颗粒粒径分布	30-150 nm
6	总蛋白浓度	$\leq 10.0 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ (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

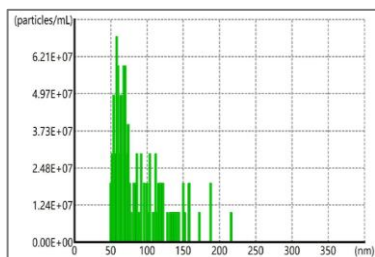
内容	冻存
形式	液体
溶剂	海藻糖等保护剂
运输	干冰运输
保存	$\leq -65^{\circ}\text{C}$
使用建议	冰上解冻, 使用前震荡混匀
保存时间	18 个月



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。
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

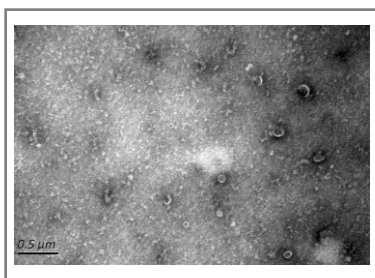


293F 外泌体参考品的 RPS 表征

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。



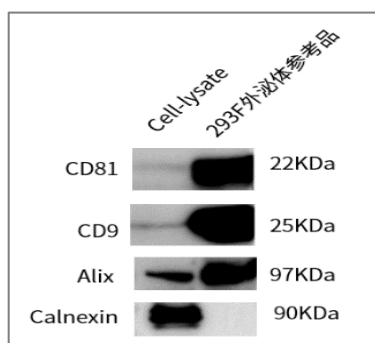
293F 外泌体参考品 TEM 表征

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，等蛋白上样量约为 8 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）。

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。

