

外泌体 解决方案



扫码查看产品详情

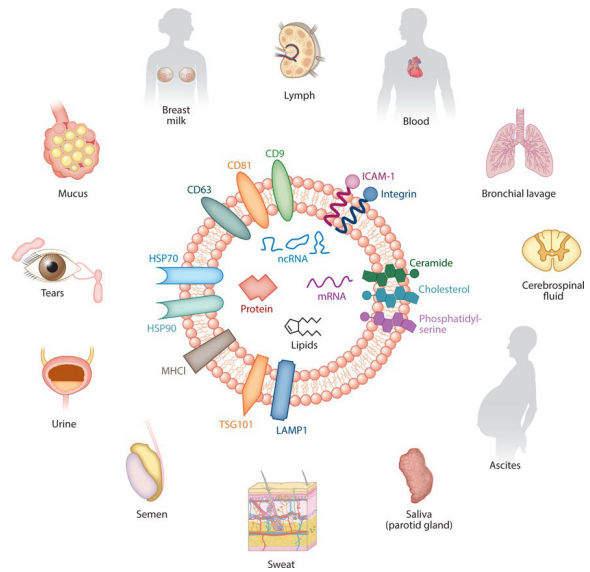
• 标题图片来源于DOI: 10.1083/jcb.201211138

■ 什么是外泌体 (Exosome)

外泌体 (Exosome) 是由细胞分泌而来的微小囊泡，直径约为 30-150nm，天然存在于血液、尿液、唾液、母乳和细胞培养基等生物体液中，几乎所有类型的细胞都可以产生并释放外泌体。

■ 外泌体相关标记慢病毒

GeneCopoeia提供携带不同标记 (tdTomato, mCherry-Flag, Flag-Gluc) 的外泌体标志物CD9, CD63和CD81的预制慢病毒，可用于示踪外泌体的形成、分泌、靶向和运输机制[1,2,3]。



• 来源: DOI:10.1146/annurev-physiol-021115-104929.

外泌体相关基因	启动子	标记	筛选标记	描述
CD9 CD63 CD81	EF1a CMV	tdTomato Flag-mCherry Flag-Gluc Halo Avi copGFP-Flag	Puromycin Blasticidin	>10 ⁸ TU/ml, 可直接用于转导实验, 100 μl (25 μl x 4管)

■ 参考文献

- [1] Current Perspectives on In Vivo Noninvasive Tracking of Extracellular Vesicles with Molecular Imaging. BioMed Research International. 2017. 9158319, 11 pages.
- [2] Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosome uptake and retrograde transport can occur at peripheral nerve endings, Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. 2019. 47:1, 2918-2929.
- [3] Cancer-associated fibroblast exosomes regulate survival and proliferation of pancreatic cancer cells. Oncogene. 2017. 36(13): 1770-1778.

■ 外泌体纯化试剂盒

GeneCopoeia提供的ExoSure™ Exosome Isolation Kit 结合沉淀法和尺寸排阻色谱 (SEC) 技术, 能够最大限度地提高外泌体的纯度和产量。

产品优势

- 产量高: 每纯化柱可获得高达 5×10^{10} 的纯化外泌体, 产量与细胞类型和培养条件有关。
- 品质高: 基于尺寸排阻色谱 (SEC) 方法, 利于保留胞外囊泡 (EVs) 的原始形态和生物学功能。
- 效率高: 实际操作时间低于20分钟。

应用场景

纯化后的外泌体可用于:

- 电子显微镜分析
- 纳米粒子跟踪 (NTA) 分析
- 核酸和蛋白质分析
- 体内和体外实验

产品性能

1. 使用ExoSure™试剂盒得到产量高、纯度高的外泌体

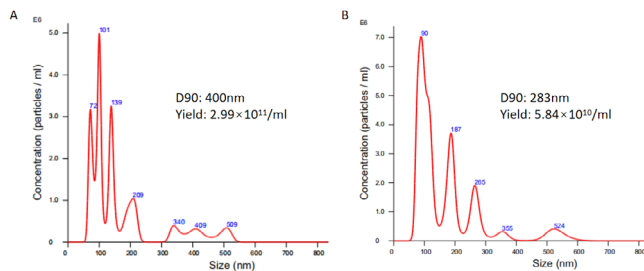


图1、 NTA分析ExoSure™分离的HEK293T细胞外泌体 (A) 使用ExoSure™ Solution (Cat. No. EP001), 得到粗提的HEK293T细胞外泌体的大小和颗粒浓度分布图。D90值为400nm, 峰值在101 nm处。(B) 使用ExoSure™ Exosome Isolation Kit (Cat. No. EP002), 得到纯化的HEK293T细胞外泌体的大小和颗粒浓度分布图, D90值为283nm, 峰值在90 nm处。

2. 外泌体标志蛋白WB检测

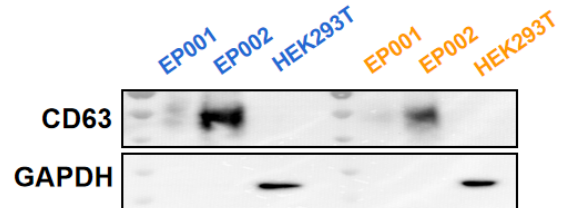


图2、 CD63外泌体标志蛋白的WB检测 分别用ExoSure™外泌体提取试剂盒EP001和EP002提取HEK293T细胞培养上清中的外泌体。提取的外泌体进行BCA蛋白定量后, 分别检测CD63和GAPDH的表达情况, 上样量分别为10 μ g(蓝色)和5 μ g(橙色), HEK293T组为细胞裂解液对照。

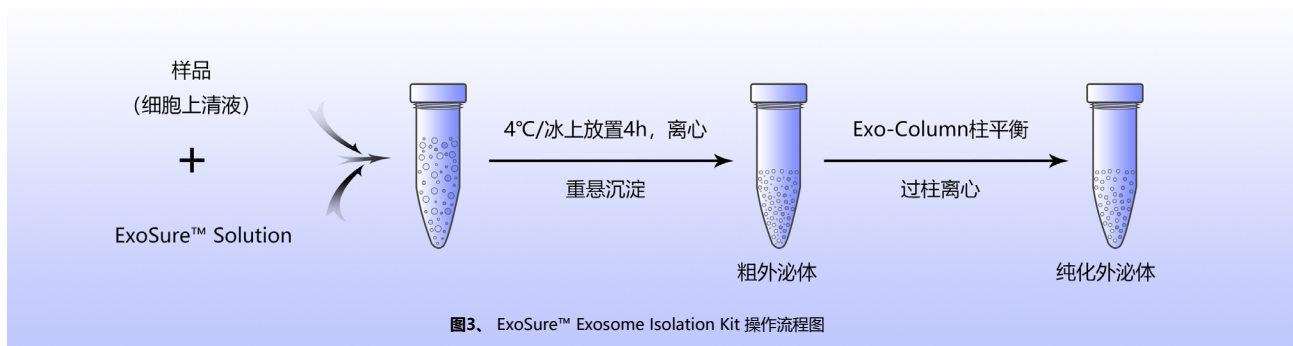


图3、 ExoSure™ Exosome Isolation Kit 操作流程

货号	产品	描述	目录价
EP001	ExoSure™ Solution (35 ml)	Optimized precipitation solution for exosome isolated	¥ 1880
EP002	ExoSure™ Exosome Isolation Kit (20 reactions)	Optimized precipitation solution and SEC technique based columns for exosome isolation	¥ 4680
EP003	ExoSure™ Exosome Isolation Kit (5 reactions)	Optimized precipitation solution and SEC technique based columns for exosome isolation	¥ 1300

■ 纳米颗粒追踪分析服务 **New!**

目前外泌体的检测与观察主要通过电子显微镜完成，电子显微镜的样本，往往需要通过干燥、固定以及冷冻等不同方式进行前处理，对生物样本的结构会造成一定的破坏，从而最终影响观察的效果。而NTA技术通过分析样本悬浊液中颗粒的布朗运动，使用斯托克斯-爱因斯坦方程，能够快速准确的检测出样本粒度的数量分布。GeneCopoeia基于马尔文NanoSight NS300平台，提供外泌体、病毒颗粒等样本的纳米颗粒追踪分析服务。

样品要求：

- 仪器检测范围 $10^6 \sim 10^9$ 颗粒/ml，建议 10^8 颗粒/ml；
- 10^9 颗粒/ml 的样品提供100ul，低于 10^8 颗粒/ml 需提供500ul 样品；
- 同时需要提供样品稀释液 20ml (无颗粒的)；

样品寄送：

- 外泌体样品：
 - 已冻存样品，采用 -20°C 低温寄送。
 - 未冻存样品，次日达采用冰袋寄送，否则需要 -20°C 低温寄送。
- 病毒样品：
 - 干冰寄送。



图4. NanoSight NS300纳米颗粒跟踪分析仪

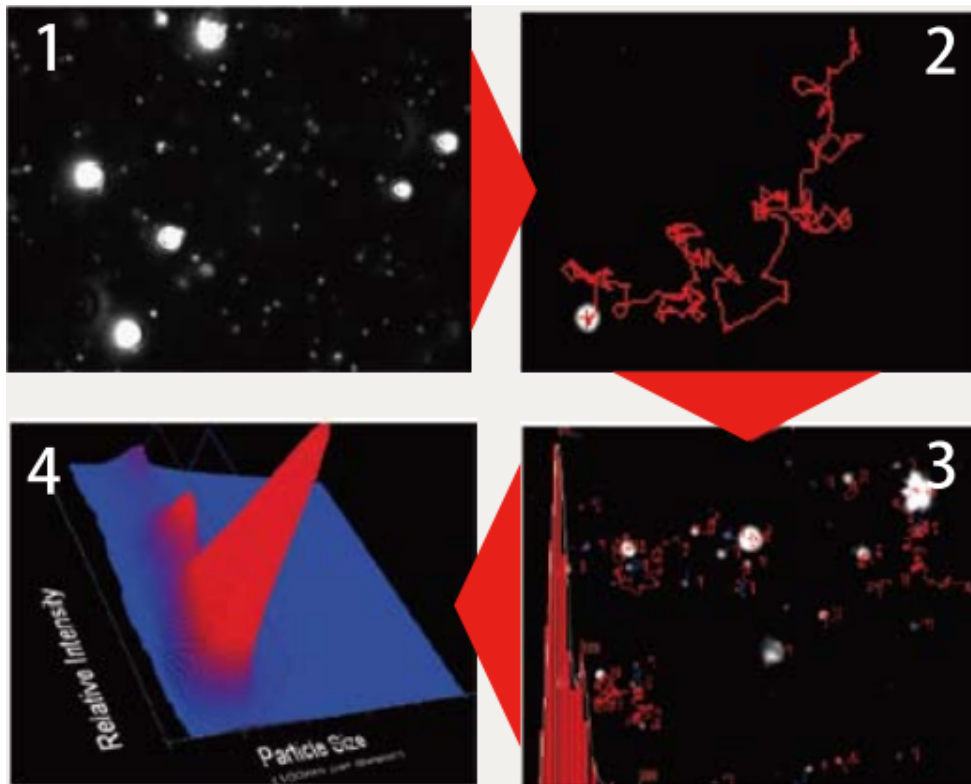


图5. NanoSight NS300 分析流程。1.NTA软件记录每一个颗粒的布朗运动；2. NTA软件对于每个颗粒自动定位，并且跟踪其中心运动的轨迹，并且计算平均位移；3. 绘制出颗粒散射光强-粒径-数量分布强度的三维图谱；4. NTA同步跟踪所有颗粒，并且得到颗粒粒径的数量分布信息。

■ 外泌体裂解直接RT-PCR试剂盒

外泌体裂解直接RT-PCR试剂盒ExoCt™ RT-qPCR System是一种无需提取外泌体RNA即可直接对外泌体进行不同基因表达水平的定量检测体系。ExoCt™ First-Strand cDNA Synthesis Kit由ExoCt™ RT-for-All™ Buffer和ExoCt™ PAP/RTase Mix组成，可在同一反应管内对外泌体中的多种RNA模板(包括miRNA, mRNA, LncRNA等)同时进行逆转录反应。

产品优势

- 操作简便：无需RNA提取，外泌体裂解物可直接进行基因定量检测
- 兼容性高：在同一个反应中对外泌体所有miRNA、mRNA和LncRNA同时进行逆转录
- 适用广：可根据不同种类RNA灵活的进行后续qPCR反应的分析 and 定量

应用场景

- 外泌体样本的快速检测
- 针对外泌体中不同类型的RNA进行快速、高效RT-qPCR的实验需求

产品性能

RNA提取法 VS ExoCt™裂解法

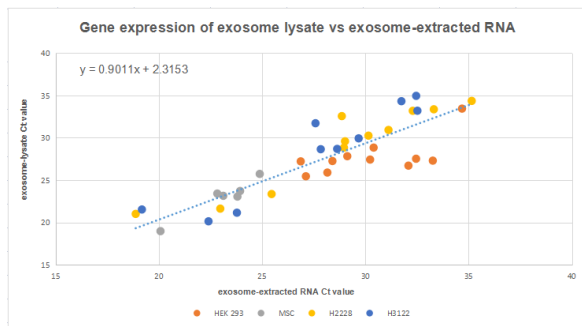


图6、外泌体裂解物和提取RNA的RT-qPCR比较结果

在175mm的培养皿中接种密度为 3×10^7 的细胞，培养至细胞丰度为70% ~ 90%。收集40ml细胞培养基，使用ExoSure™ Exosome Isolation Kit纯化外泌体。HEK293(红色)，MSC(灰色)，H2228(黄色)，H3122(蓝色)的外泌体分别使用GeneCopoeia的ExoCt™ Lysis Buffer裂解以及提取RNA。使用ExoCt™逆转录试剂将外泌体裂解物或提取的RNA逆转录为cDNA。然后使用cDNA进行基因表达检测。

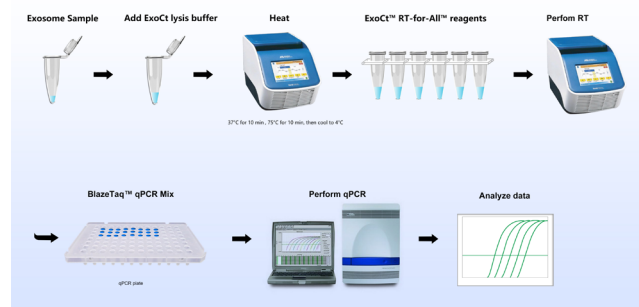


图7、ExoCt™ RT-qPCR System 操作流程

在已纯化的外泌体中加入等量的ExoCt™裂解缓冲液，然后在PCR仪设置37°C 10分钟，75°C 10分钟。外泌体裂解物可直接用于ExoCt™逆转录反应，cDNA产物可用于miRNA、mRNA和LncRNA等基因的qPCR检测。

货号	产品	描述	价格
ExoCt™ RT-PCR Kit			
QP125	ExoCt™ First-Strand cDNA Synthesis Kit	ExoCt™ Lysis Buffer, ExoCt™ RT-for-All™ Buffer, ExoCt™ PAP/RTase Mix (20 rxn)	¥ 1500
QP126	ExoCt™ First-Strand cDNA Synthesis Kit	ExoCt™ Lysis Buffer, ExoCt™ RT-for-All™ Buffer, ExoCt™ PAP/RTase Mix (60 rxn)	¥ 3600
ExoCt™ SYBR® Green RT-qPCR Kit			
QP131	ExoCt™ SYBR® Green RT-qPCR Kit	ExoCt™ Lysis Buffer, ExoCt™ RT-for-All™ Buffer, ExoCt™ PAP/RTase Mix, BlazeTaq™ qPCR Mix, ROX Reference Dye, Universal Adaptor PCR Primer (20 RT and 200 qPCR)	¥ 2000
QP132	ExoCt™ SYBR® Green RT-qPCR Kit	ExoCt™ Lysis Buffer, ExoCt™ RT-for-All™ Buffer, ExoCt™ PAP/RTase Mix, BlazeTaq™ qPCR Mix, ROX Reference Dye, Universal Adaptor PCR Primer (60 RT and 600 qPCR)	¥ 5000

■ 外泌体相关miRNA表达检测阵列

GeneCopoeia通过对发表文献的全面检索，精心筛选miRNA与外泌体之间的密切关系，提供用于分析与外泌体相关的miRNA表达的miProfile™ exosome miRNA qPCR阵列。miProfile™外泌体miRNA阵列可以帮助研究人员分析不同样本(尿液[4,5]、血液[6,7]或牛奶)和各种癌症(如肺癌[8,9]、结直肠癌[10]、乳腺癌[11]、前列腺癌[12]等)的外源体中miRNA的差异表达，从而了解miRNA在不同细胞间相互通讯中的作用。

产品优势

- 经文献筛选：从大量外泌体相关研究的文献中筛选得到的与外泌体相关性较高的miRNAs
- 灵敏度高：可检测低至20 pg的Total RNA (或者低至10 pg的small RNA)
- 特异性好：能够区分单核苷酸错配的miRNAs。每套引物都经过了实验验证，以便进行特定的扩增
- 重复性高：阵列间具有高重复性 (R2>0.99)
- 已验证的miRNA引物：每条miRNA特异验证引物均使用专利算法设计并经过实验验证

货号	产品名称	种属	miRNAs个数	平板数
QM044	miProfile™ Human exosome miRNA qPCR array	Human	706	8 x 96-well plates
QM045	miProfile™ Human exosome miRNA qPCR array	Human	658	2 x 384-well plates
QM046	miProfile™ Human MSC exosome miRNA qPCR array	Human	190	2 x 96-well plates
QM047	miProfile™ Human blood exosome miRNA qPCR array	Human	262	3 x 96-well plates
QM048	miProfile™ Human urine exosome miRNA qPCR array	Human	54	1 x 96-well plates
QM049	miProfile™ Human milk exosome miRNA qPCR array	Human	32	1 x 96-well plates
QM050	miProfile™ Human Cancer exosome miRNA qPCR array	Human	264	3 x 96-well plates
QM051	miProfile™ Human lung cancer exosome miRNA qPCR array	Human	48	1 x 96-well plates
QM052	miProfile™ Human leukemia exosome miRNA qPCR array	Human	40	1 x 96-well plates
QM053	miProfile™ Human hepatocellular cancer exosome miRNA qPCR array	Human	37	1 x 96-well plates
QM054	miProfile™ Human colorectal cancer exosome miRNA qPCR array	Human	51	1 x 96-well plates
QM055	miProfile™ Human lymphoma exosome miRNA qPCR array	Human	35	1 x 96-well plates
QM056	miProfile™ Human squamous cell carcinoma exosome miRNA qPCR array	Human	49	1 x 96-well plates
QM057	miProfile™ Human ovarian cancer exosome miRNA qPCR array	Human	30	1 x 96-well plates
QM058	miProfile™ Human bladder cancer exosome miRNA qPCR array	Human	27	1 x 96-well plates
QM059	miProfile™ Human prostate cancer exosome miRNA qPCR array	Human	34	1 x 96-well plates
QM060	miProfile™ Human breast cancer exosome miRNA qPCR array	Human	36	1 x 96-well plates
QM061	miProfile™ Human renal cancer exosome miRNA qPCR array	Human	22	1 x 96-well plates
QM062	miProfile™ Human stomach cancer exosome miRNA qPCR array	Human	32	1 x 96-well plates
QM063	miProfile™ Human pancreatic cancer exosome miRNA qPCR array	Human	29	1 x 96-well plates

■ 参考文献

- [4] Identification of cell-free microRNAs in the urine of patients with prostate cancer. *Urol Oncol*. 2015. 33(1):16.e17-16.e22.
- [5] MicroRNA-29c in urinary exosome/microvesicle as a biomarker of renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013. 305(8):F1220-7.
- [6] Protocol for serum exosomal miRNAs analysis in prostate cancer patients treated with radiotherapy. *J Transl Med*. 2018. 16(1):223.
- [7] Exosome-Derived miR-130a Activates Angiogenesis in Gastric Cancer by Targeting C-MYB in Vascular Endothelial Cells. *Mol Ther*. 2018. 3;26(10):2466-2475.
- [8] Tissue and exosomal miRNA editing in Non-Small Cell Lung Cancer. *Sci Rep*. 2018. 8(1):10222.
- [9] Hypoxic BMSC-derived exosomal miRNAs promote metastasis of lung cancer cells via STAT3-induced EMT. *Mol Cancer*. 2019. 18(1):40.
- [10] Downregulation of exosome-encapsulated miR-548c-5p is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *J Cell Biochem*. 2018. Pages 1457-1463.
- [11] Simultaneous and multiplexed detection of exosome microRNAs using molecular beacon. *Biosens Bioelectron*. 2016. 86:202-210.
- [12] Protocol for serum exosomal miRNAs analysis in prostate cancer patients treated with radiotherapy. *J Transl Med*. 2018. 16(1):223.