

## 外泌体透射电镜检测服务

外泌体 (exosome)，特指直径在 40-150nm 的盘状囊泡。其主要来源于细胞内内容酶体微粒内陷形成的多囊泡体，经多囊泡体外膜与细胞膜融合后释放到胞外基质中。

外泌体在免疫中抗原呈递、肿瘤的生长与迁移、组织损伤的修复等生理病理上起着重要的作用。同时，不同细胞分泌的外泌体具有不同的组成成分和功能，可作为疾病诊断的生物标志物。

目前，外泌体鉴定方式主要有：电镜、NTA、WB 和流式等。

### 一、技术简介

本实验室采用 **HITACHI H-7650** 进行外泌体形态学检测。透射电镜是通过加速和聚集的电子束投射到样品上，电子与样品中的原子碰撞而改变方向，从而产生立体角散射，散射角的大小与样品的密度、厚度相关，因此可以形成明暗不同的影像，影像放大、聚焦后在成像器件上显示出来，可以直接观察外泌体的大小与结构，是外泌体表征鉴定方法的“金标准”。

### 二、样本量

由于电镜检测结果与外泌体纯度有关，建议外泌体送样量不低于 **30 $\mu$ l**（外泌体请用 PBS 溶解，**避免反复冻融**）。本公司同样提供外泌体提取服务，如需本公司提取外泌体，建议血清、血浆样本不少于 **1ml**，细胞培养上清及尿液等体液样本不少于 **20ml**。如样本珍贵，可联系我司寄回，运费根据具体情况另行收取。

### 三、样本运输及保存

样本应低温保存，邮寄的标本 1-2 日到达可用冰袋，2 日以上到建议用干冰，可混冰袋，干冰若挥发完可继续保持低温。样品邮寄提前跟公司联系并告知快递单号。样本寄送必须随附样本信息表（样本信息表可通过当地经销商或公司售前技术支持索取），样本信息单尽量填写完整、清晰，**仔细核对确保填写信息与样本信息完全一致**，并将填好的委托单发送到公司邮箱 [info@rengenbio.com](mailto:info@rengenbio.com)。

### 四、实验流程

#### 1. 外泌体提取

- (1) 血清或血浆样本，采用本公司的“外泌体提取和纯化试剂盒（血清或血浆）”（Cat.# EXORG10SP-1）提取外泌体，再用“**Super EV 超尺寸排阻色谱柱**”（Cat.# EXOSEC0.5-5）进行外泌体纯化。具体操作流程详见说明书。
- (2) 细胞培养上清或尿液样本，采用本公司的“外泌体浓缩试剂盒（细胞培养上清）”（Cat.# EXOCCon05-10）或“外泌体浓缩试剂盒（尿液）”（Cat.# EXOUCon10-10）浓缩外泌体，再采用再用“**Super EV 超尺寸排阻色谱柱**”（Cat.# EXOSEC1.0-3）进行外泌体纯化，具体操作流程详见说明书。

## 2. 外泌体电镜检测

- (1) 提取的外泌体溶于 50-100 $\mu$ l 2%多聚甲醛溶液中（可在 4 $^{\circ}$ C 储存一周）。
- (2) 取 5-10 $\mu$ l 外泌体溶液加到 Formvar-carbon 载样铜网上。
- (3) 取 100 $\mu$ l PBS 加到封口膜上，用镊子将铜网（Formvar 膜面朝下）放在 PBS 液滴上清洗。注意：在所有步骤中，都应保持 Formvar 膜面湿润，而另一面干燥。
- (4) 将铜网放在 50 $\mu$ l 1%戊二醛液滴上 5 分钟。
- (5) 将铜网放在 100 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 洗 2 分钟（洗 8 次）。
- (6) 将铜网放在 50 $\mu$ l 草酸双氧铀液滴上（pH7.0）5 分钟。
- (7) 将铜网放在 50 $\mu$ l 甲基纤维素液滴上 10 分钟，冰上操作。
- (8) 铜网放到样品台顶端的不锈钢环上，在滤纸上吸去多余液体。
- (9) 空气干燥 5-10 分钟。
- (10) 将铜网放在样品盒里，80kV 下拍摄电镜照片。

## 五、报告交付

实验室收到样本后 **4-5** 个工作日完成检测（单次送样量大于 10 个可能会出现延迟），每个样本提供 **3-6** 张原始检测图片。

## 六、邮寄信息

收样地址：沈阳市铁西区经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼 2 门

收样人：科研服务部

电话：15811016428（肖木亮），18698607502（赵卓）

邮箱：info@rengenbio.com

请尽量避免本实验室周末收件，如不可避免，请提前来电（024-31086590）或邮件（info@rengenbio.com）告知！

辽宁省沈阳市经济技术开发区十三号路 77 号联东 U 谷 20 号楼 || www.rengenbio.com || 110027 || T:+86-024-31086590 || F:+86-024-31086589