



产品使用说明书

外泌体修饰试剂盒(叶酸)

Exsomes Decorating Kit (for folate)

Cat.# **ExoSMfol05-1**
 ExoSMfol10-1

辽宁润基生物科技有限公司

Liaoning Rengen Biosciences Co.,Ltd.

Version 1.0

2/7/2020

目 录

保存和应用	2
产品介绍	3
试剂盒组成和说明	4
操作方法	5
实验数据分析	6
相关产品信息	7
技术支持	8

保存与应用

【保存条件】

干冰或冰袋运输，收到试剂盒后按不同组分分别在 2-8℃或-20℃下保存。有效期 6 个月，使用前请仔细阅读说明书。

【应用范围】

本产品只用于科学研究，不能用于临床诊断和治疗。

产品介绍

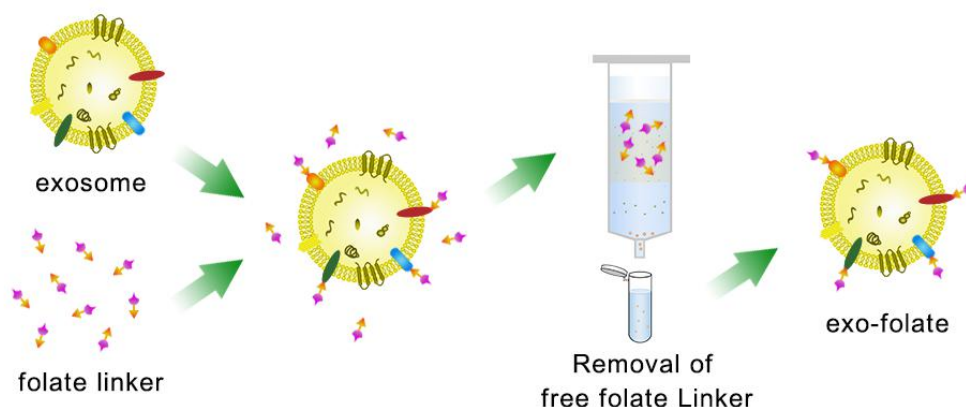
外泌体(Exosome)是由不同细胞分泌的直径 30-150nm 的胞外膜性囊泡。外泌体内容物丰富，包括蛋白质、脂质和核酸等，在细胞间信息交流中发挥着重要作用，并与多种疾病的发生、发展、治疗及预后密切相关。

作为天然的胞间信息载体，外泌体免疫原性低，生物相容性高，在人体血液中比较稳定。能够利用增强渗透滞留效应（Enhanced Permeation and Retention effect, EPR），有选择性的渗透和滞留在肿瘤或炎症组织部位，可穿透血脑屏障等。不仅可以通过其内源内容物直接对受体细胞进行治疗，也可以作为药物载体，递送化学药物、蛋白质、多肽及基因药物，在医疗领域具有巨大的应用潜力。为了增强外泌体的治疗效果，降低对正常细胞的毒害，需提高外泌体的靶向递送能力，目前科研常用方法是基因改造分泌外泌体的细胞，利用重组克隆质粒，在细胞中表达靶向蛋白或多肽-外泌体膜蛋白复合物，收集释放的外泌体，来获得靶向外泌体，但该方法修饰效率低，且部分细胞转染困难，难以大规模制备。

叶酸受体是一种糖基化磷脂酰肌醇（GPI）偶联蛋白，除个别组织外，叶酸受体在正常组织表达水平很低，而在许多肿瘤细胞表面高度表达，具有良好的肿瘤组织特异性。叶酸受体与叶酸及其衍生物有高度的亲和性，近年来基于叶酸受体的靶向应用非常广泛，可以将显像剂、治疗药物与叶酸偶联，或在药物载体表面修饰叶酸，进行肿瘤的影像诊断和靶向治疗。

本试剂盒通过化学连接的方法，直接将叶酸以共价键方式偶联在外泌体表面，再采用 SEC 分子排阻柱将游离的叶酸去除，得到大量纯净的叶酸靶向外泌体。

本试剂盒叶酸修饰效率高，反应条件温和，生理条件下即可发生反应，反应特异性好，无有害副产物，不损伤外泌体膜结构，也不影响外泌体的生物活性和功能，为外泌体靶向提供了一种高效、简便的修饰手段，可实现叶酸靶向外泌体的大规模制备。



试剂盒组成和说明

组分名称	Cat.# ExoSMfol05-1	Cat.# ExoSMfol10-1	保存温度
folate linker	30 μ L \times 1 支	30 μ L \times 2 支	-20 $^{\circ}$ C避光、干燥
反应增强液	50 μ L \times 1 支	100 μ L \times 1 支	2-8 $^{\circ}$ C
SuperEV 0.5 外泌体纯化柱 (货号: EXOSEC0.5-5)	5 支	10 支	2-8 $^{\circ}$ C

注意：纯化柱内含有保存液，请竖立保存。

需自备的试剂和设备

1. PBS 缓冲液 (pH 7.2-7.6)
2. 0.22 μ m 滤膜
3. 收集管 (烧杯, 2mL 和 mL 离心管)
4. 旋转混匀仪或震荡混匀仪

【注意事项】

1. folate linker 易水解，使用前需室温放置 10 分钟，平衡至室温，避免冷凝水凝结，使用后请立即盖好旋紧，用封口膜密封。
2. folate 对光照敏感，在紫外光照射下易降解，失去活性，实验操作时请注意避光。
3. 外泌体缓冲液中避免含有 Tris、甘氨酸等带胺的物质。
4. 可以对任何来源的外泌体进行修饰，包括细胞培养液和体液(如，血清、血浆、尿液、CSF 或唾液) 提取的外泌体。
5. 不建议使用 PEG 沉淀法提取的外泌体，推荐超速离心法、亲和色谱法、SEC 分子排阻色谱法或磁珠捕获等方法提取的外泌体。
6. 为达到较好的体内浓度和靶向效果，外泌体浓度不得低于 2×10^{10} 颗粒数/mL。
7. 本试剂盒为非无菌操作，在下游细胞实验或体内实验前，必须将修饰好的外泌体进行 0.22 μ m 滤膜过滤，以达到无菌状态。
8. 本试剂盒未开封前的有效期为 6 个月，请在有效期内使用。

操作方法

一、实验前准备

1. folate linker 室温平衡

从-20℃冰箱中取出 folate linker, 室温放置 10 分钟, 使其充分平衡至室温。

2. SuperEV 0.5 外泌体纯化柱室温平衡

从冰箱中取出 SuperEV 0.5 外泌体纯化柱, 垂直固定, 若无合适的垂直固定装置, 可从我公司购买配套的固定组件 (货号: HCS1012), 室温放置至少 30 分钟, 使柱子充分平衡至室温。

注意:

- 柱子平衡至室温前, 不要打开顶盖和底盖。
- 柱子第一次使用, 上筛板与填料表面可能存在间隙, 这是储存过程中填料沉降造成的, 不影响分离性能, 实验前将筛板向下垂直推到填料表面即可。

二、外泌体偶联 folate linker

取 600 μ L 外泌体至 2mL 离心管中, 加入 2.4 μ L 反应增强液, 吹打混匀, 再加入 6 μ L folate linker, 吹打混匀, 置于旋转混匀仪或震荡混匀器上, 室温震荡孵育 1.5 小时, 即得到 *exo-folate* 反应物。

组分	加入体积 (μ L)	过程
外泌体	600	室温孵育 1.5 小时
反应增强液	2.4	
folate linker	6.0	

三、*exo-folate* 的纯化

1. 纯化柱柱平衡 (可在外泌体孵育 folate linker 时完成)

- 1) 将收集管 (烧杯或普通离心管) 放置在 SuperEV 0.5 外泌体纯化柱下方, 打开顶盖, 用移液器吸弃上方的保存液。
- 2) 外泌体纯化柱取下底盖, 分次共加入 20mL PBS 冲洗柱子。
- 3) 冲洗过程始终保持顶部筛板湿润, 避免柱体变干。冲洗完成后, 盖上底盖, 加入少量 PBS 等待后续操作。

2. *exo-folate* 纯化 (去除游离的 folate linker 分子)

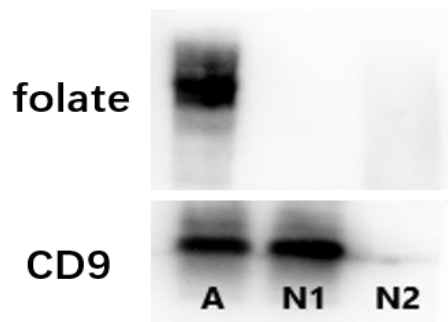
- 1) 吸弃 SuperEV 0.5 纯化柱筛板上方的 PBS，取下柱子底盖，下方放置 5mL 离心管。
- 2) 将 **exo-folate** 反应物混匀，瞬时离心，使液体全部集中在管底。
- 3) 在筛板上方加入全部的 **exo-folate** 反应物（约 600 μ L），待样品全部进入筛板、出口无液体流出时，加入 2.9mL PBS，当液体全部流出后，收集完毕，该馏分大约 3.5mL，不含外泌体，可直接丢弃。
- 4) 继续加入 1.2mL PBS 进行洗脱，用 2mL 离心管收集馏分。待出口无液体流出时，该馏分收集完毕，**exo-folate** 集中在该馏分。
- 5) 收集完毕后，柱子可直接丢弃。
- 6) 本试剂盒操作过程不是无菌操作，在进行下游细胞实验或体内实验前，必须将叶酸修饰的外泌体进行 0.22 μ m 滤膜过滤，以保证无菌。

实验数据分析

1. Western Blot 证实外泌体表面成功修饰上叶酸

按本试剂盒操作方法，将 **folate** 修饰在纯化的尿外泌体表面（A），阴性对照 N1 为尿外泌体，不偶联 **folate linker** 直接纯化，阴性对照 N2 为相应浓度的 **folate linker** 直接过柱纯化。

从下图中可说明，经 Western Blot 方法可成功将叶酸 **folate** 修饰在外泌体表面。



相关产品信息

相关产品	目录号
外泌体浓缩试剂盒（细胞培养上清或尿液）	EXOCon10-10/ EXOCon40-10
外泌体纯化试剂盒(SuperEV 柱+浓缩柱)	EXOSECon0.5-5/ EXOSECon1.0-3/ EXOSECon3.0-2
人外泌体捕获和分离试剂盒(CD9/63/81 捕获磁珠) (细胞上清或尿液)	EXOMCUCom-10
外泌体表面修饰试剂盒（SA-Biotin）	ExoSMSA05-1/ ExoSMSA10-1
蛋白质生物素标记和纯化试剂盒	Probio10-1/ Probio20-1
外泌体表面修饰试剂盒（靶向蛋白）	ExoSMpro05-1/ ExoSMpro10-1/
外泌体生物素标记和纯化试剂盒	ExoPbio05-1/ ExoPbio10-1
DiO-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (green)	EXOPDiO10-1/ EXOPDiO20-1
DiI-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (red)	EXOPDiI10-1/ EXOPDiI20-1
DiR-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (red)	EXOPDiR10-1/ EXOPDiR20-1
PKH67-Membrane Exosome Labeling & Purification Kit (green)	EXOPPKH67-10/ EXOPPKH67-20

技术支持

关于查看详细产品信息和下载相关资料请登陆：<http://www.rengenbio.com>

同时可通过电话或 Email 接触技术支持。

公司：**辽宁润基生物科技有限公司**

地址：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

邮编：110027

电话：024-31086590

邮箱：公司信息 info@rengenbio.com

技术支持 support@rengenbio.com

产品订购 order@rengenbio.com



微信公众号



外泌体研究交流群