

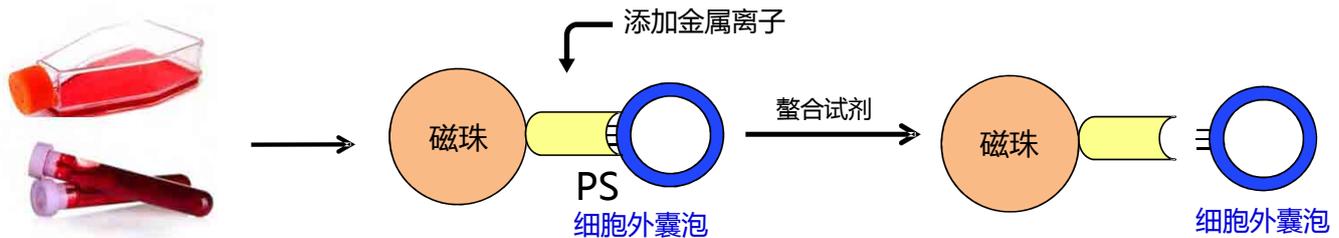
新型亲和分子纯化外泌体

MagCapture™

## Exosome Isolation Kit PS



## 细胞膜表面磷脂酰丝氨酸的亲和方法



使用磷脂酰丝氨酸 (PS) 结合蛋白，细胞外囊泡在金属离子依赖方式捕获，接着用金属粒子整合试剂进行洗脱。

## 特点

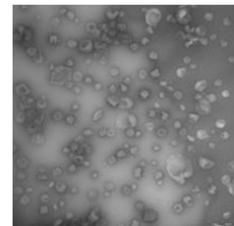
## 使用新型亲和纯化方法

- 通过PS亲和分子回收※
- 低背景值
- 在中性条件下通过整合试剂进行温和洗脱

※与常规的使用抗体亲和纯化方法相比，可获得更高产量的外泌体。

磷脂酰丝氨酸 (PS) 亲和方法可获得高纯度的外泌体

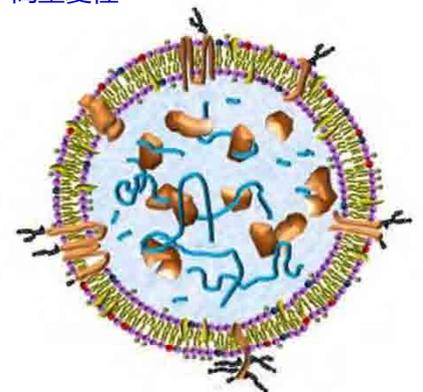
可获得高纯度，完整的外泌体



## 无需进行超滤

- 使用磁珠改进了操作
- 流程优化

高重复性



与其他纯化方法相比			
方法	纯度	外泌体回收率	获得囊泡的完整性
MagCapture™ (PtdSer亲和方法)	◎	■■■	○
超滤	△	■■	○
多聚物沉淀	×	■■■■	○
外泌体表面抗原亲和方法 (使用抗体)	○	■	×

样品类型：细胞培养上清，血清，尿液等。

注意：该试剂盒不适合用整合剂比如EDTA，柠檬酸处理的血浆样品

产品名称	包装规格	和光编号	保存条件
MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS	10次	293-77601	保存在2-10℃

## 从人血清中提取外泌体的产量比较

使用该试剂盒，超滤和表面抗原的抗体亲和纯化的方法提取人血清样品的外泌体，接着用CD9和CD63抗体进行免疫印迹实验进行检测。



第1道：超滤

第2道：**MagCapture™**

第3道：外泌体提纯试剂盒 (CD9) (公司A)

第4道：外泌体提纯试剂盒 (CD63) (公司A)

第5道：外泌体提纯试剂盒 (CD81) (公司A)

第6道：外泌体提纯试剂盒 (CD9) (CD9, CD63, CD81&EpCAM的抗体磁珠混合物)

MagCapture™的外泌体产量高于超滤或者使用抗体进行亲和纯化的方法



## 常规沉淀方法的比较

来自K562 (人慢性粒细胞白血病 (CML)) 细胞培养上清 (无血清培养基, 或者10% 外泌体缺失FBS补充培养基) 用该试剂盒、超滤和多聚物沉淀方法纯化外泌体的产量和纯度比较。

### MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS

离心 (10,000 ×g, 30分钟), 从1mL预处理的K562细胞培养上清 (无血清培养基或者10%外泌体缺失FBS补充培养基) 收集外泌体 (根据试剂盒操作流程, 反应时间: 3小时)

### 超滤

离心 (10,000 ×g, 30分钟), 10mL预处理的K562细胞培养上清 (无血清培养基或者10%外泌体缺失FBS补充培养基) 超滤 (110,000×g, 70分钟)。用TBS重悬沉淀后, 重新超滤沉淀的片段回收。

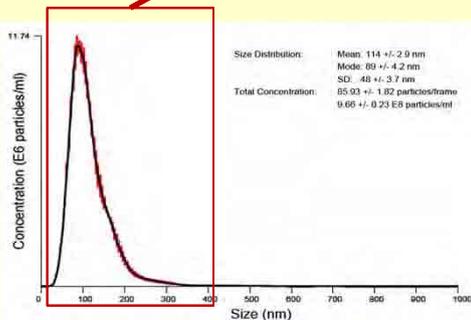
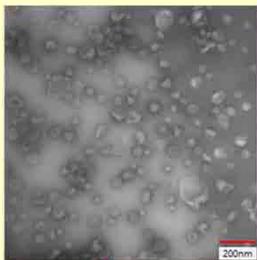
### 多聚物沉淀

离心 (10,000 ×g, 30分钟), 从1mL预处理的K562细胞培养上清 (无血清培养基或者10%外泌体缺失FBS补充培养基) 收集外泌体 (根据公司A的实验流程, 预计时间: 过夜)

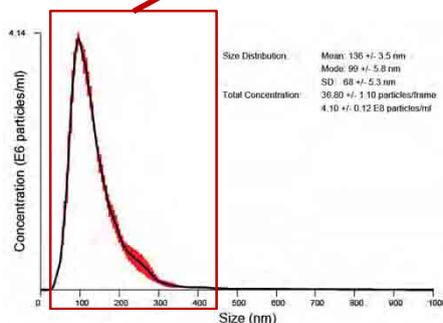
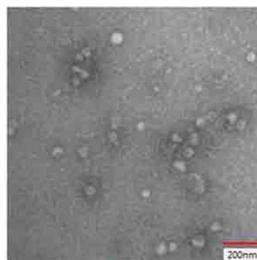
## 用NanoSight进行电镜显微镜分析和Nano示踪分析

使用MagCapture™、超滤和多聚物沉淀从K562 细胞培养上清 (无血清培养基) 获得的外泌体片段的颗粒大小用NanoSight LM-10进行鉴定。收集的外泌体片段(2-4 × 10<sup>10</sup>颗粒)用2%多聚甲醛进行固定, 用电镜分析。

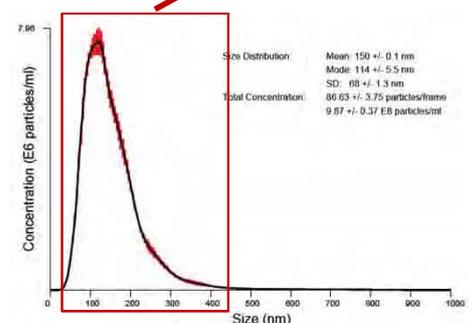
### MagCapture™



### 超滤



### 多聚物沉淀



Electron microscope images were provided by R. Hanayama at Faculty of Medicine, Kanazawa University and W. Nakai at iFRem Osaka University.

MagCapture™收集的颗粒在100nm左右。在电镜中可以观察到很多细胞外囊泡。

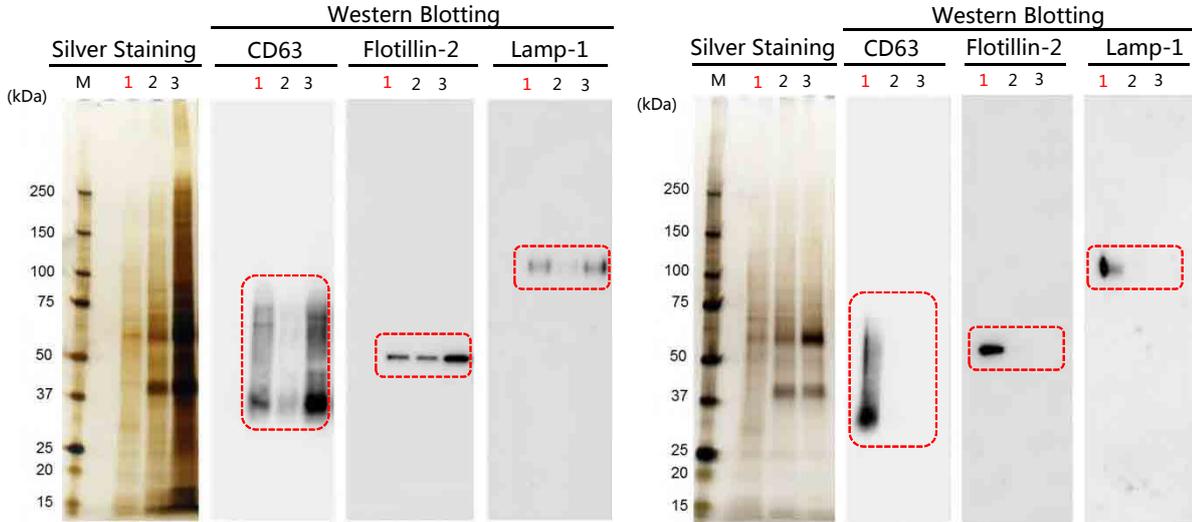


## K562细胞培养上清回收量和纯度的比较（无血清培养基）

用MagCapture™、超滤和多聚物沉淀从K562 细胞培养上清（无血清培养基）获得样品进行电泳。接着用银染，CD63, Flotillin-2和Lamp-1抗体进行免疫印迹实验。

**回收量的比较**  
(从150ul培养上清获得的回收量)

**纯度比较**  
(从200ng蛋白中回收的标志物蛋白的数量)



第1道：MagCapture™  
第2道：超滤  
第3道：多聚物沉淀（A公司）

使用MagCapture™外泌体的回收率高，杂质蛋白很少，纯度和回收率的平衡最佳！

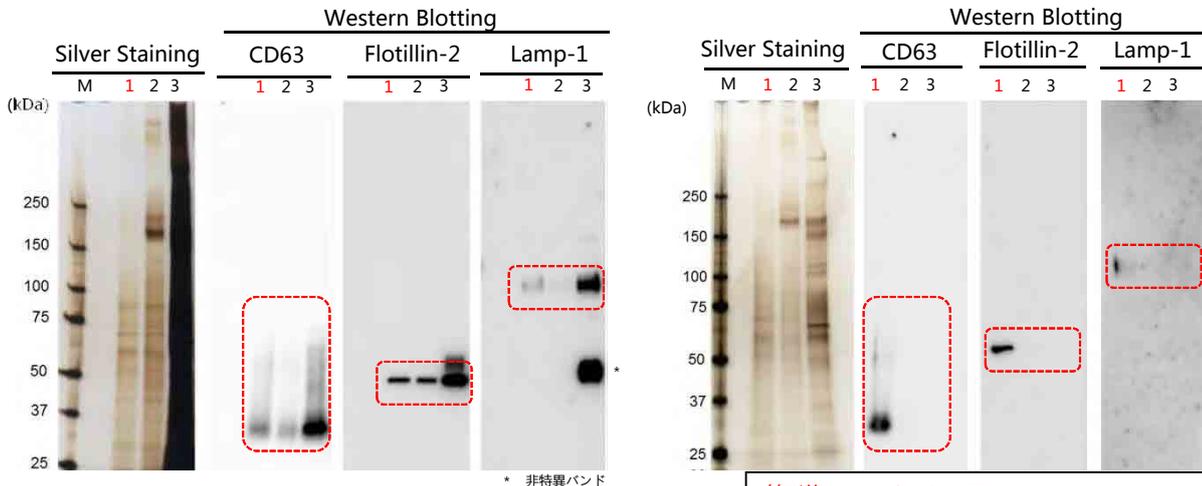


## 从K562细胞培养上清获得回收率和纯度的比较（用10% FBS-补充）

用MagCapture™、超滤和多聚物沉淀三种方法，从K562 细胞培养上清（10% 外泌体-缺失 FBS补充培养基）获得样品进行电泳，用银染方法和CD63、Lamp-1和Flotillin-2抗体进行免疫印迹。同时，收集的样品也进行质谱测定，比较所有鉴定的多肽中来自K562细胞的人来源多肽的百分比（由于添加到细胞培养基的FBS中牛蛋白聚集体是混杂的，所以人来源多肽的比率会下降）

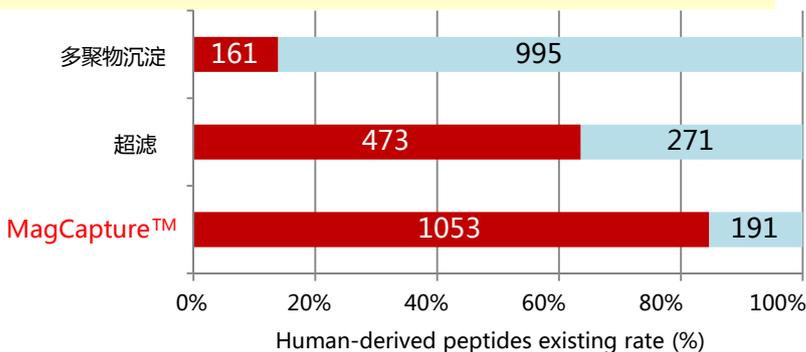
**回收量的比较**  
(150ul细胞培养上清的回收量)

**纯度比较**  
(200ng蛋白回收的生物标志物蛋白的数量)



第1道：MagCapture™  
第2道：超滤  
第3道：多聚物沉淀（A公司）

### 质谱鉴定人来源的多肽比较



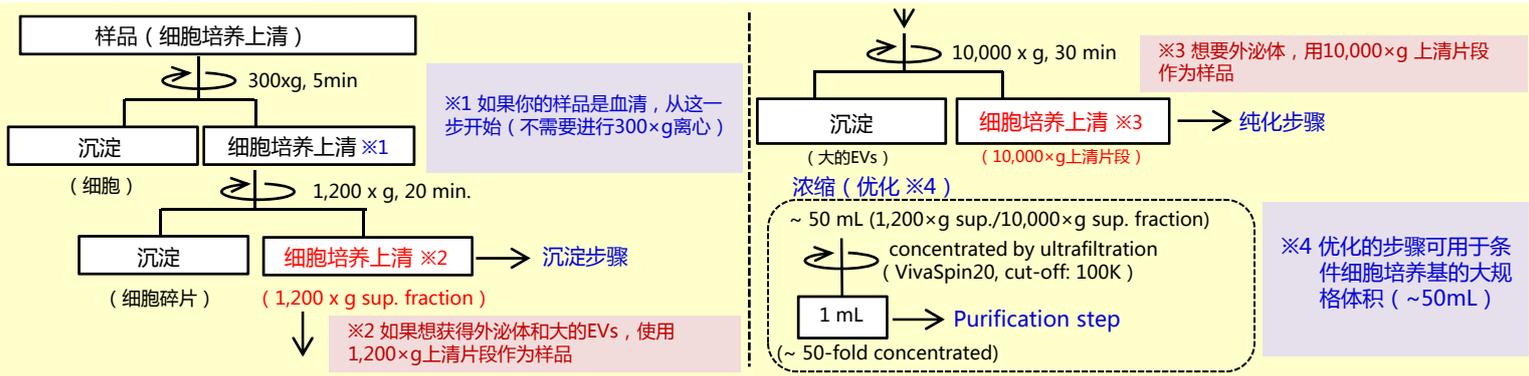
■ 人来源多肽的数目  
■ FBS来源的多肽数目

使用MagCapture™从FBS培养基中获得高纯度的外泌体，所以在质谱检测时背景值低。

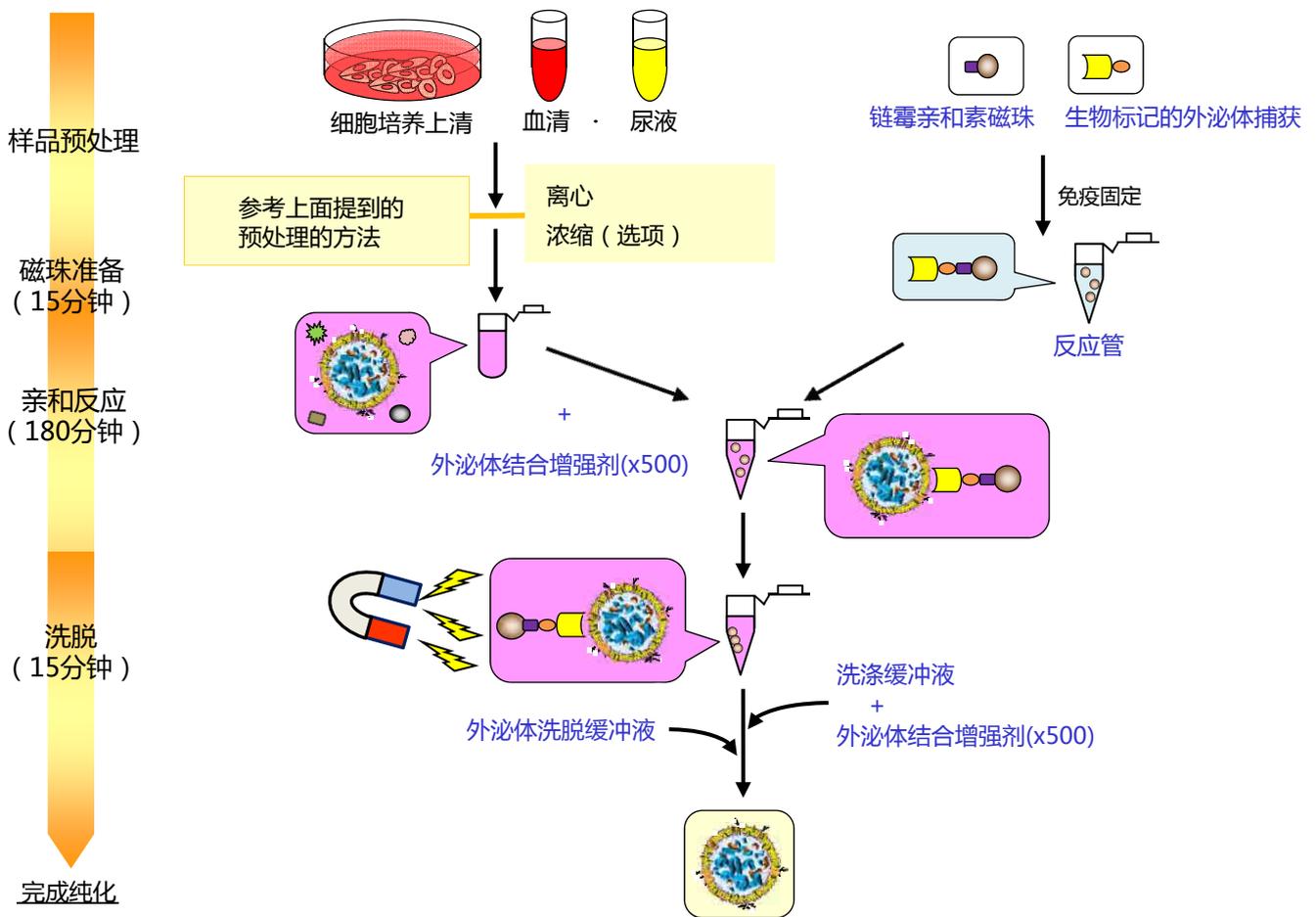


MASS analysis data was provided by R. Hanayama at Faculty of Medicine, Kanazawa University and W. Nakai at iFRem Osaka

## 细胞培养上清或者血清的预处理



## 检测流程



Wako

和光純薬工業株式会社  
Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

全国代理

Boppard

宝柏·中国

www.boppard.cn  
info@boppard.cn

北京 Tel: 010 85804838

上海 Tel: 021 62884751

广州 Tel: 020 87326381

香港 Tel: 852 27999019