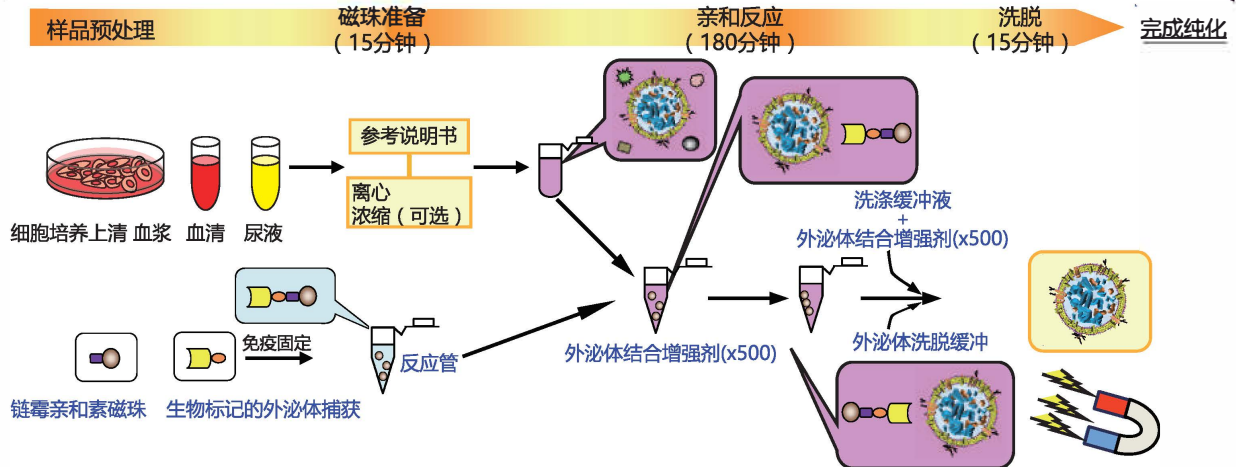


PS 亲和法外泌体提取试剂盒 MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS



磷脂酰丝氨酸 (PS) 亲和法



在Ca²⁺离子依存下细胞外囊泡表面的磷脂酰丝氨酸 (PS) 与Tim4蛋白及磁珠强力结合, 经磁力架捕捉磁珠后, 再利用EDTA金属螯合剂洗脱分离出高纯度且完整的细胞外囊泡。

试剂盒构成

产品名称	包装规格		储存条件
	10次 货号: 293-77601	2次 货号: 299-77603	
MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS			2-10°C
试剂盒成分:	<10次>	<2次>	
(1) 链霉亲和素磁珠	600 μL×1 管	120 μL×1 管	
(2) 生物素标记的外泌体捕获	100 μL×1 管	20 μL×1 管	
(3) 外泌体捕获免疫固定缓冲液	35 mL×1 瓶	7 mL×1 瓶	
(4) 外泌体结合增强剂(x500)	500 μL×1 管	100 μL×1 管	
(5) 洗涤缓冲液	75 mL×2 瓶	30 mL×1 瓶	
(6) 外泌体洗脱缓冲液	5 mL×1 瓶	1 mL×1 瓶	
(7) 反应管	22 管	4 管	

特点

与其他纯化方法相比				
方法	外囊泡纯度	囊泡状态	可操作性	回收量
PS亲和法	■■■■	完整	简便稳定	■■■■
超速离心法	■■	完整	简便	■■
聚合物沉淀法	■	完整	简便快捷	■■■■
密度梯度离心法	■■■■	完整	复杂	■■
抗体亲和法	■■■■	不完整	简便稳定	■■

样品类型: 细胞培养上清、血清、血浆、尿液等

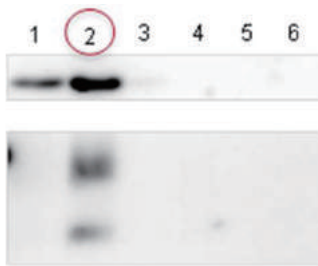
- ◆ 磷脂酰丝氨酸 (PS) 亲和法获得**高纯度**的完整细胞外囊泡
- ◆ **重复性高**, 回收量稳定
- ◆ **简易操作** (约3.5小时)
- ◆ 启用多个样品 (无需超速离心)

产品名称	包装规格	产品编号
MagCapture™ 外泌体提取试剂盒PS	10次	293-77601
MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS	2次	299-77603

※ 每套磁珠可重复洗脱5次, 该试剂盒的实际使用量为10*5次/2*5次。

从人血清中提取外泌体的产量比较

使用该试剂盒，超离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，接着中CD9和CD63抗体进行免疫印迹实验进行检测。



CD9
CD63

- 第1道：超离
- 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离或者使用抗体进行亲和纯化的方法



常规沉淀方法的比较

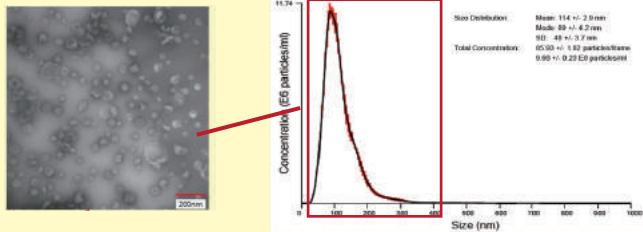
来自K562（人慢性粒细胞白血病（CML））细胞培养上清（无血清培养基，或者0%外泌体缺失FBS补充培养基）用该试剂盒、超离和多聚物沉淀方法纯化外泌体的产量和纯度比较。

用NanoSight进行电镜显微镜分析和Nano示踪分析

使用MagCapture™、超离和多聚物沉淀从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 x 1010颗粒)用2%多聚甲醛进行固定，用电镜分析。

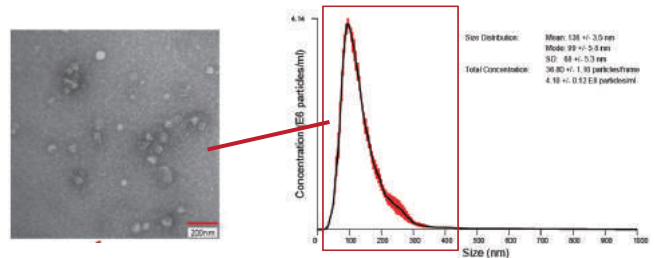
MagCapture™

离心：10,000×g，30min
样品量：1 mL
反应时间：3h



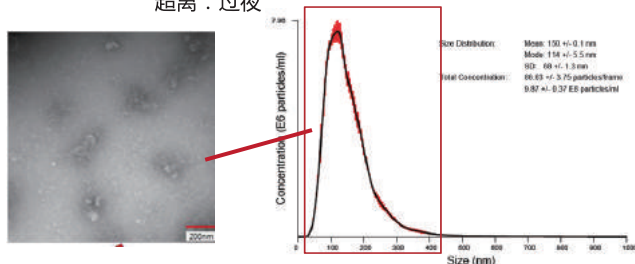
超离

离心：10,000×g，30min
样品量：10 mL
超离：110,000×g，70min



多聚物沉淀

离心：10,000×g，30min
样品量：1 mL
超离：过夜



Electron microscope images were provided by R. Hanayama at Facu Ity 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。

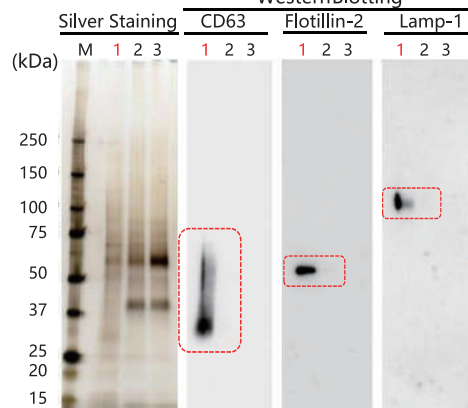
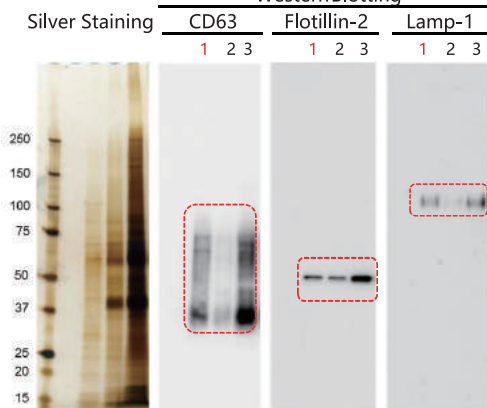


K562细胞培养上清回收量和纯度的比较（无血清培养基）

MagCapture™、超离和多聚物沉淀从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

（从150uL培养上清获得的回收量）
Western Blotting

纯度比较（从200ng蛋白中回收的标志物蛋白的数量）
Western Blotting



第1道：MagCapture™
第2道：超离
第3道：多聚物沉淀（A公司）

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



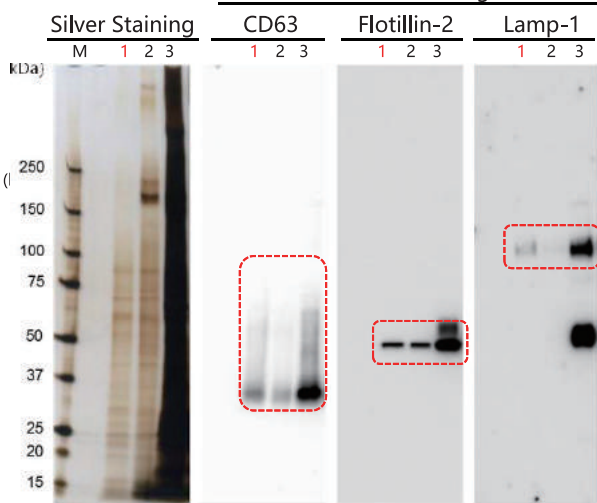
从K562细胞培养上清获得回收率和纯度的比较 (用10% FBS-补充)

MagCapture™、超离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 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)

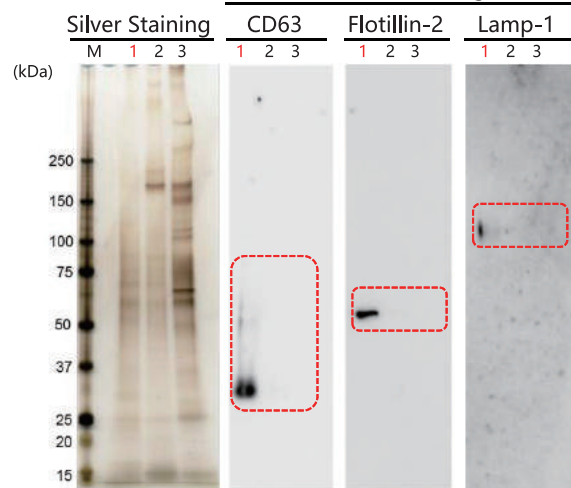
Western Blotting



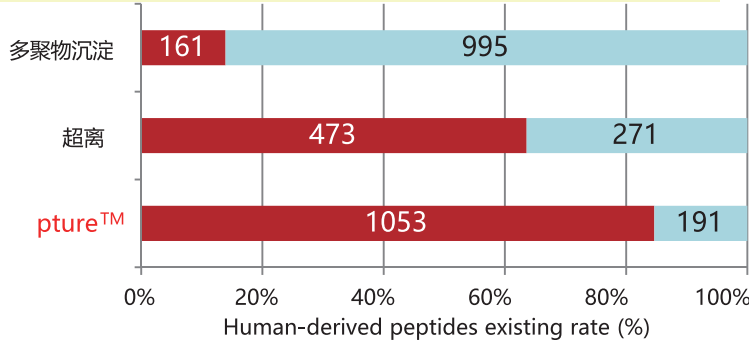
纯度比较

(200ng蛋白回收的生物标志蛋白的数量)

Western Blotting



质谱鉴定人来源的多肽比较



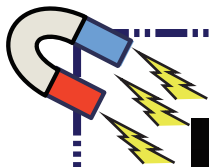
第1道: MagCapture™
第2道: 超离
第3道: 多聚物沉淀 (A公司)

■ 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



MagCapture™ 系列磁珠捕获用磁力架



产品编号: 290-35591

可同时进行16支1.5mL (0.2mL) 微管的操作, 因配置强力磁石, 可短时间内捕获微小的磁珠。

磁珠捕获时间	1.0μm磁珠 1mL: 约25秒
	2.7μm磁珠 1mL: 约10秒
	4.5μm磁珠 1mL: 约2秒
作业容量	20μL~1,500μL (2,000μL)
产品尺寸	W198.8×D49×H49 (mm)
重量	235g

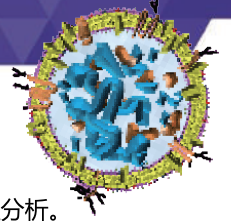
相关产品

产品编号	产品名称	包装规格
295-71701	microRNA提取试剂盒 microRNA Extractor® SP Kit	50 次
317-90175	10 x TBS缓冲液 (pH 7.4) 10 x TBS (pH 7.4)	500 mL
290-35591	MagCapture™ 系列磁珠捕获用磁力架 Magnet Stand	1 个

细胞培养上清中外泌体的定性·定量分析新型工具！！

PS Capture™ Exosome ELISA Kit(Anti Mouse IgG POD)

外泌体ELISA试剂盒（抗小鼠IgG POD）



本酶联免疫试剂盒可用于细胞培养上清中的囊泡的定量分析，以及细胞培养上清或体液样品纯化囊泡的定性分析。

将能与外囊泡表面的磷脂酰丝氨酸（PS）特异性结合的Tim4蛋白包被到板上，细胞外囊泡与其反应固定后，任意可识别外囊泡表面标记蛋白的小鼠单抗作为检测一抗，试剂盒的HRP标记小鼠IgG抗体为二抗，可高灵敏度检测表面具有任意标记蛋白的细胞外囊泡。

参考文献：“A novel affinity-based method for the isolation of highly purified extracellular vesicles”, W. Nakai, T. Yoshida, D. Diez, Y. Miyatake, T. Nishibu, N. Imawaka, K. Naruse, Y. Sadamura & R. Hanayama, Sci Rep 6, 33935 (2016).

产品特点

采用PS结合分子 Tim4包被板

通过磷脂酰丝氨酸（PS）结合分子进行捕捉。*1
可检测出0.1 μL培养上清液细胞外囊泡。
用纯化细胞外囊泡标准品*2进行定量检测。
可通过WB法*3进行50~1,000倍水平高灵敏度检测。

培养上清细胞外囊泡
高灵敏度定性·定量检测

*1 也可通过抗体包被板ELISA系统进行外囊泡定性·定量分析。
*2 请使用MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS获得外囊泡标准品。
*3 WB法：免疫印迹实验

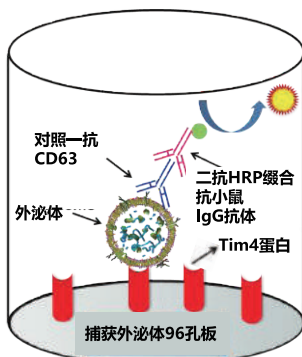
最优化试剂盒

最优化对照用一抗*4
最优化检测用二抗*5
采用显色法

操作简便，实验重复性高

*4 附加抗人CD63抗体。检测其他表面标记蛋白可利用任意小鼠单抗。
*5 附加抗小鼠IgG抗体-HRP标记。

测定原理



试剂盒组成

试剂盒组成（96次）	包装规格
捕获外泌体96孔板	1个 (8 wells×12strips)
反应/洗涤缓冲液（10×）	50 mL×2瓶
外泌体结合增强子（100×）	10 mL×1瓶
对照一抗Anti-CD63（100×）	120 μL×1瓶
二抗HRP缀合抗小鼠IgG（100×）	120 μL×1瓶
TMB溶液	12 mL×1瓶
终止液	12 mL×1瓶
封板膜	4个
说明书	1本

产品名称	包装规格	产品编号
PS Capture™ 外泌体ELISA试剂盒（抗小鼠IgG POD） PS Capture™ Exosome ELISA Kit (Anti Mouse IgG POD)	96次	297-79201

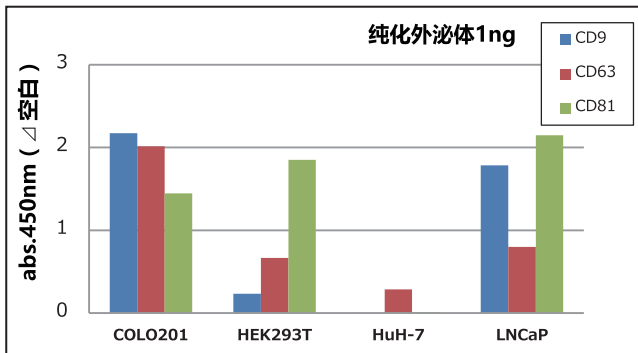
* 体液样品，用MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS纯化的细胞外囊泡进行定性分析。

各种细胞培养上清纯化外囊泡定性分析

将各种细胞获得的纯化外囊泡1ng添加至板孔中，利用能检测表面标记蛋白CD9/CD63/CD81的一抗通过本试剂盒对各表面标记量进行定性比较。

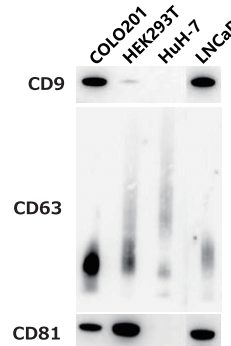
另外，作为比较参考数据，将各细胞纯化150ng外囊泡进行电泳，利用能检测表面标记蛋白CD9/CD63/CD81的一抗对各表面标记蛋白量进行定性分析。

每1ng纯化外泌体的定性比较数据



参考比较数据

纯化外泌体150ng

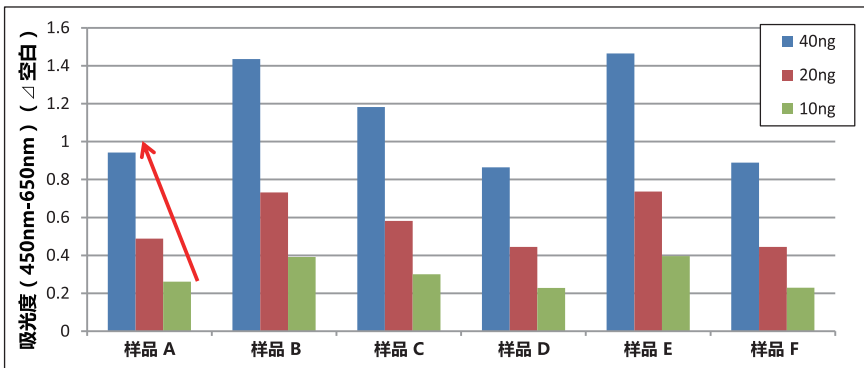


ELISA系统和WB分析之间，已确认标记蛋白表达模式具有相关性！！

正常人血清纯化细胞外囊泡定性分析

将从正常人血清的6个样品纯化的细胞外囊泡，通过BCA检测外囊泡膜上的蛋白浓度。分别添加40、20、10ng到孔中，用可识别表面标记CD63的对照组检测一抗测定OD值进行定性比较。

各纯化外泌体的定性比较数据



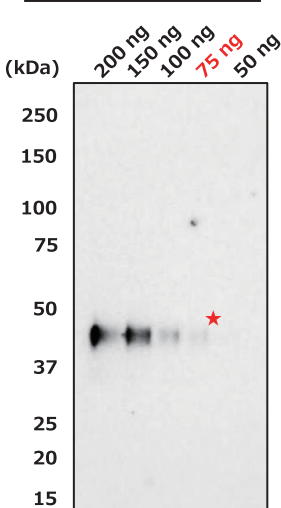
使用从体液样品纯化的细胞外囊泡具有良好的线性！！



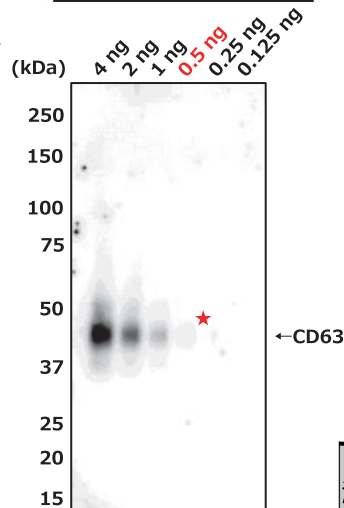
细胞培养上清纯化细胞外囊泡的检测灵敏度参考数据

COLO201细胞培养上清纯化外囊泡，比较本试剂盒和免疫印迹实验的检测灵敏度。

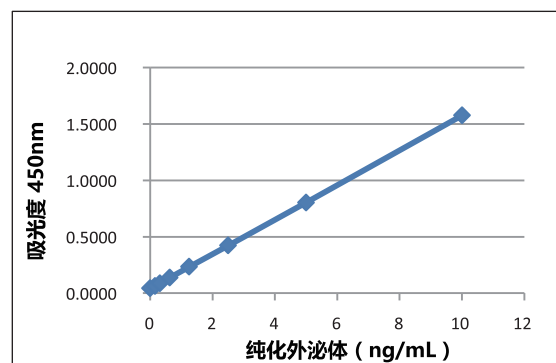
(a) 抗CD63抗体
其他公司产品A



(b) 抗CD63抗体
(Code No. 012-27063)



(c) COLO201标准曲线



	检测限 (pg) (空白+3.3SD)	定量限 (pg) (空白+10SD)
COLO201 源纯化细胞外囊泡	0.11 ng/mL (11 pg)	0.34 ng/mL (34 pg)

免疫印迹实验和ELISA的检测灵敏度比较

(a), (b) 使用各种抗CD63抗体 (其他公司产品, Wako产品: Code No. 012-27063) 进行免疫印迹实验检测灵敏度数据
 样品: COLO201细胞培养上清纯化外囊泡 (MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS纯化)
 ★: 各抗体免疫印迹实验的检测限。

(c) Exosome ELISA Kit检测限数据

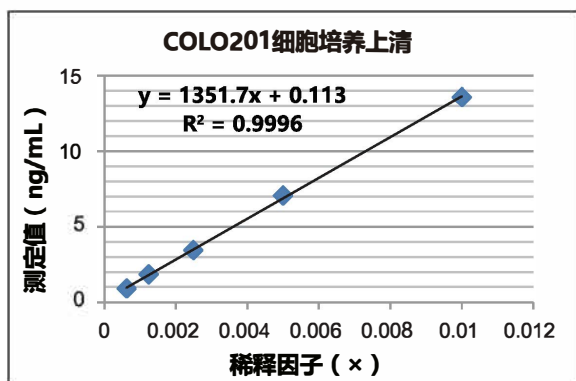
用本试剂盒对COLO201细胞源纯化外囊泡 (使用MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS) 经过梯度稀释的样品以及缓冲液的空白值进行测定, 制作COLO201标准曲线。利用此标准曲线可算出COLO201源纯化样品的最低检测灵敏度。(测定各浓度点n=6, 空白点n=12)



比免疫印迹实验可高灵敏度检测标记蛋白!!

细胞培养上清样品的稀释线性 (Linearity) 参考数据

COLO201细胞培养上清纯化外囊泡为标准品制作标准曲线, 以COLO201细胞培养上清5个梯度稀释样品 (1:100-1:1600) 进行稀释线性评估。



COLO201细胞培养上清					
CM量 (μL)	稀释		测定值 (ng/mL)	期望值 (ng/mL)	预期百分比
	比率	稀释因子 (x)			
0.0625	1:1,600	0.000625	0.89	0.91	98.4
0.125	1:800	0.00125	1.82	1.72	105.6
0.25	1:400	0.0025	3.44	3.52	97.8
0.5	1:200	0.005	7.04	6.78	103.9
1	1:100	0.01	13.6	-	-

标准品: COLO201细胞源外泌体
 (MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS纯化)
 测定样品: COLO201细胞培养上清
 一抗: 试剂盒附带抗CD63抗体



良好的稀释线性, 已确认可检测0.1 μL培养上清的细胞外囊泡!!

相关产品

产品编号	产品名称	包装规格
293-77601	MagCapture™ 外泌体提取试剂盒PS	10次
299-77603	MagCapture™ Exosome Isolation Kit PS	2次
012-27063	抗CD63单抗 (3-13)	100 μL
016-27061	Anti CD63, Monoclonal Antibody (3-13)	20 μL
CAC-SHI-EXO-M01-50UL	CD9 外泌体提取抗体 Anti CD9 for Exosome Isolation	100 μL
CAC-SHI-EXO-M02-50UL	CD63 外泌体提取抗体 Anti CD63 for Exosome Isolation	100 μL
CAC-SHI-EXO-M03-50UL	CD81 外泌体提取抗体 Anti CD81 for Exosome Isolation	100 μL



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