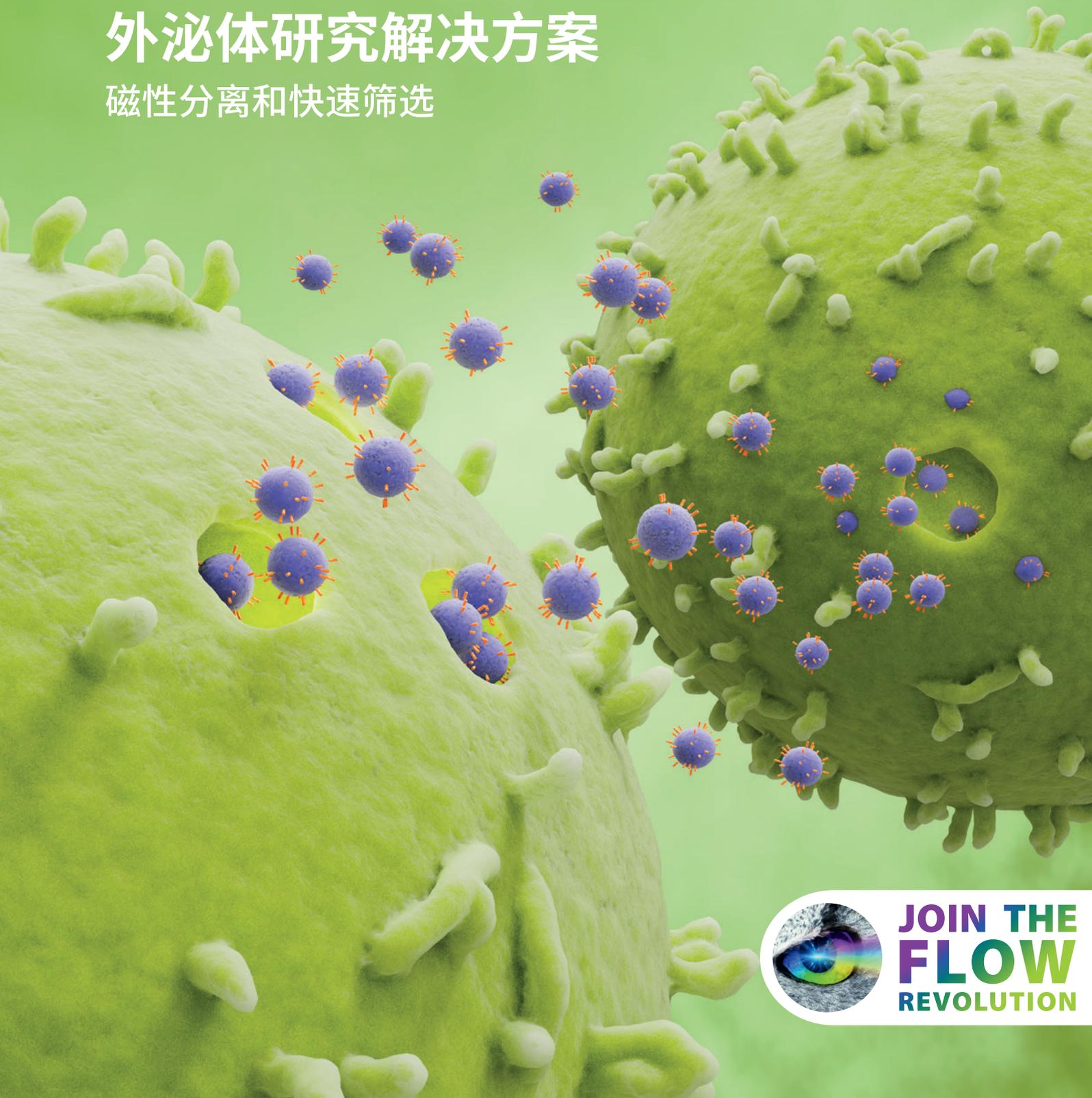




Miltenyi Biotec

# 外泌体研究解决方案

磁性分离和快速筛选



JOIN THE  
**FLOW**  
REVOLUTION

# 轻松实现外泌体分离

## 无需离心

从细胞培养上清或体液中分离细胞外囊泡

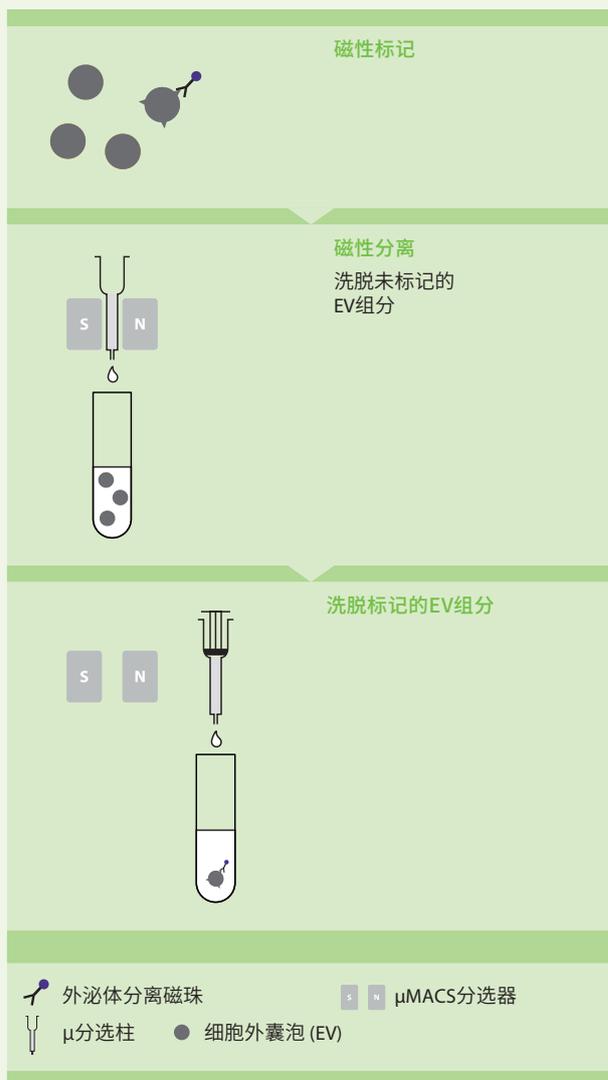


图1：使用外泌体分离试剂盒进行EV磁性分离的原理。

## 外泌体——小囊泡产生大影响

外泌体是来源于具内吞作用的细胞外囊泡 (EV)，多种类型的细胞都会分泌外泌体，如T细胞、B细胞、树突状细胞、血小板、神经元和上皮细胞。它们参与了多种细胞功能，包括凝血和细胞间信号传导。外泌体在临床领域的应用目前受到了越来越多的关注，例如，其可用作生物标志物。

## MACS®技术——最可靠的磁性分离技术

利用MACS®技术可轻松分离EV，其已经过反复测试和验证，是被数万篇文献引用过的细胞分离方法。该技术的核心在于三个重要部件：i)与抗体偶联的纳米级超顺磁化MACS磁珠，可特异性地检测细胞或EV表面的特定表位，ii) MACS分选器，iii) 可产生强磁场的MACS分选柱。

美天旎利用外泌体表面常见的四次跨膜蛋白CD9、CD63和CD81，研发出专用于EV分离的试剂盒。外泌体入门级试剂盒 (Exosome Starting Kits) 包含外泌体分离所需的所有材料，包括分选器和分选柱。

## 简单三步实现EV分离

首先，用外泌体分离磁珠CD9、CD63或CD81对细胞培养上清或体液中的EV进行磁性标记。然后将标记后的EV加到μ分选柱中，分选柱置于μMACS™分选器的磁场中。磁性标记的EV滞留在分选柱内，未标记的囊泡和细胞组分流过分选柱。将分选柱移出磁场，洗脱即可得到完整的EV(图1)。

- 快速 (< 2小时) 轻松地分离外泌体，无需超速离心
- 基于CD9、CD63或CD81，或者三种标志物组合的靶向分离
- 从细胞培养上清或体液（如血浆、尿液或腹水）中分离EV

# MACSPlex 外泌体试剂盒

## 特色应用



### 快速可靠的EV分离和蛋白表达谱分析

使用基于单个四次跨膜蛋白（即CD9、CD63或CD81）的外泌体分离试剂盒分离EV后，即可用MACSPlex外泌体试剂盒轻松进行蛋白表达谱分析(图4)。对于大部分MACSPlex外泌体捕获磁珠类型，采用CD63分离的EV信号最强，其次是CD81和CD9。超速离心法是传统的EV制备方法。不过，这种方法十分耗时，且无法得出较完全的蛋白表达谱分析结果(图4)：相比利用MACS®技术分离并使用MACSPlex外泌体试剂盒分析EV，超速离心法分离的EV只显示出微弱的荧光信号。

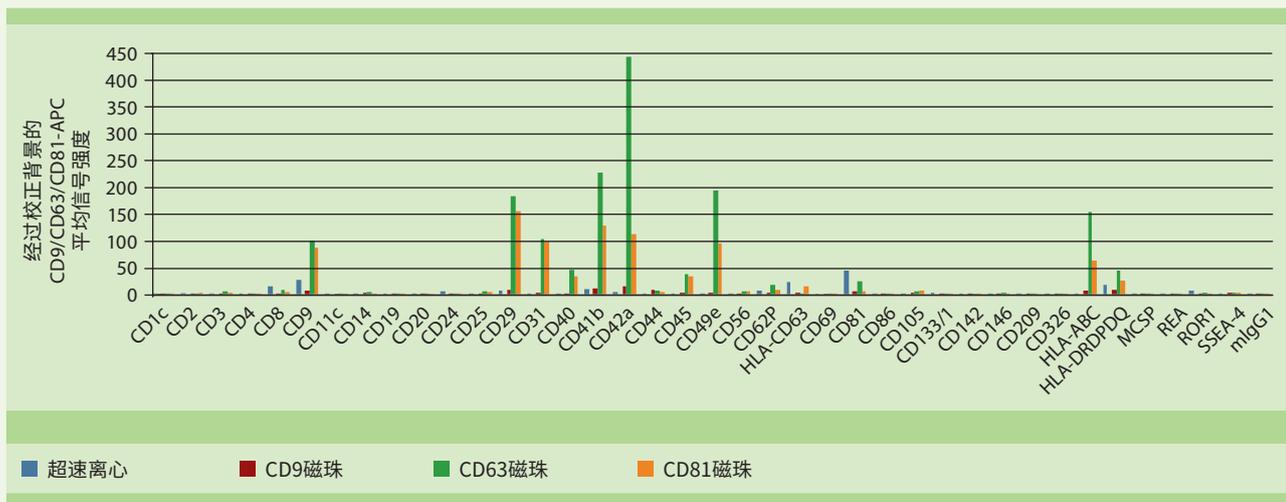


图4：使用CD9、CD63或CD81外泌体分离试剂盒，和超速离心法或免疫磁珠分离从血浆中分离的EV的表面标志物蛋白表达谱比较。使用其中一种试剂盒或利用超速离心法从2 mL血浆中分离出EV。将体积调整至2 mL血浆体积，使用MACSPlex外泌体试剂盒对外泌体进行分析。分离获得的EV用39种MACSPlex外泌体捕获磁珠孵育，然后用CD9-、CD63-和CD81-APC抗体混合物染色，数据以APC信号强度的中间值表示。REA和migG1表示同型对照磁珠。

Product	Order no.
Exosome Isolation Kit CD9, human	130-110-913
Exosome Isolation Kit CD63, human	130-110-918
Exosome Isolation Kit CD81, human	130-110-914
Exosome Isolation Kit Pan, human	130-110-912
Exosome Starting Kit CD9, human	130-111-573
Exosome Starting Kit CD63, human	130-111-576
Exosome Starting Kit CD81, human	130-111-575
Exosome Starting Kit Pan, human	130-111-572

Product	Order no.
Exosome Isolation Kit CD9, mouse	130-117-042
Exosome Isolation Kit CD63, mouse	130-117-041
Exosome Isolation Kit CD81, mouse	130-117-040
Exosome Isolation Kit Pan, mouse	130-117-039
Exosome Starting Kit CD9, mouse	130-118-917
Exosome Starting Kit CD63, mouse	130-118-915
Exosome Starting Kit CD81, mouse	130-118-916
Exosome Starting Kit Pan, mouse	130-118-918
MACSPlex Exosome Kit, human	130-108-813

表1：外泌体研究产品。

# MACSplex 外泌体试剂盒

## 特色应用

用于EV分析的抗体

Anti-HLA-ABC	CD19	CD62P
Anti-HLA-DR, DP, DQ	CD20	CD63
Anti-MCSP	CD24	CD69
Anti-ROR1	CD25	CD81
Anti-SSEA-4	CD29	CD86
CD1c	CD31	CD105
CD2	CD40	CD133/1
CD3	CD41b	CD142
CD4	CD42a	CD146
CD8	CD44	CD209
CD9	CD45	CD326
CD11c	CD49e	Mouse IgG1 Control
CD14	CD56	REA Control

表2: MACSplex外泌体试剂盒用于EV分析的表面标志物和对照抗体。

## 获取分离原代血细胞释放的EV

对于特定的血细胞类型或其亚群,需要采用可靠且高效的方法分离出单个细胞群体,然后再对其释放的EV进行蛋白表达谱分析。

MACS磁珠是一种理想的解决方案,甚至可以直接从全血中富集不同的细胞类型。分离获得的细胞可立即进行培养,然后使用MACSplex外泌体试剂盒直接对释放到培养基中的EV进行分析。

图5显示了从分离获得的免疫细胞中释放的EV的蛋白表达谱。特定类型的细胞表面表达的许多标志物也存在于这些细胞释放的EV上。因此,可以使用EV标志物表达谱确定其来源。表2概括了用于EV分析的抗体。

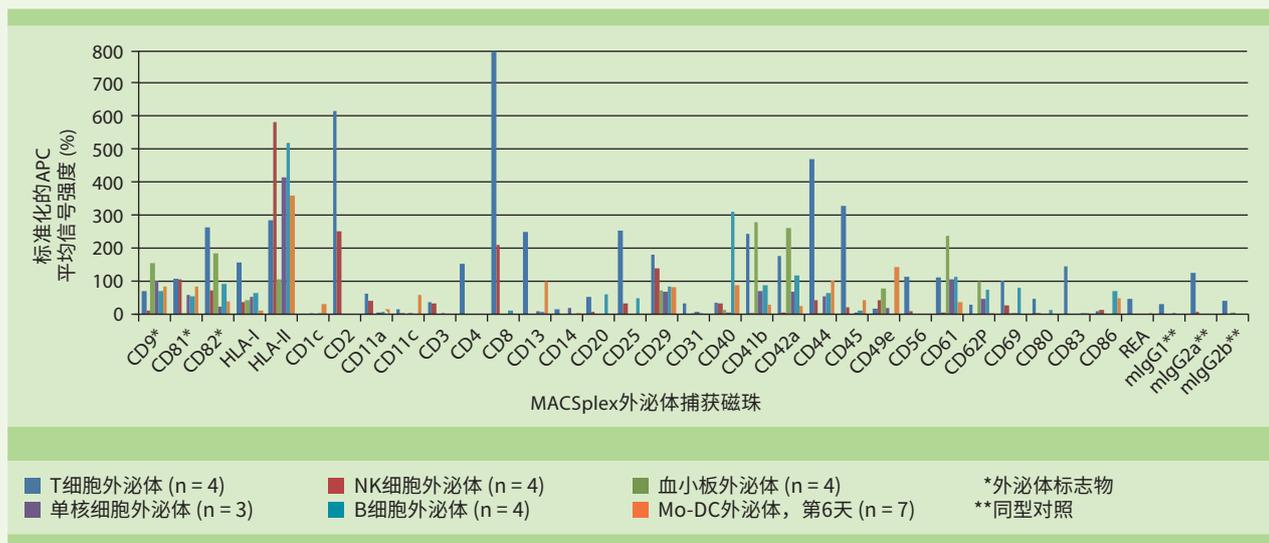


图5: 分析分离血细胞释放的EV。使用细胞类型-特异性的MACS磁珠,从健康供体血液中分离出单个类型的细胞。对分离获得的细胞进行短期培养后,使用MACSplex外泌体捕获磁珠(大多已包含在MACSplex外泌体试剂盒中)对释放到细胞培养上清液中的EV进行分析。将单核细胞来源的树突状细胞(Mo-DC)与CD14+单核细胞区分开来。以外泌体标志物CD9和CD81的平均值为基准(设定为100%),对信号强度进行标准化,以补偿不同的EV产量。

# 外泌体分析新突破

## 利用流式细胞术实现快速筛选

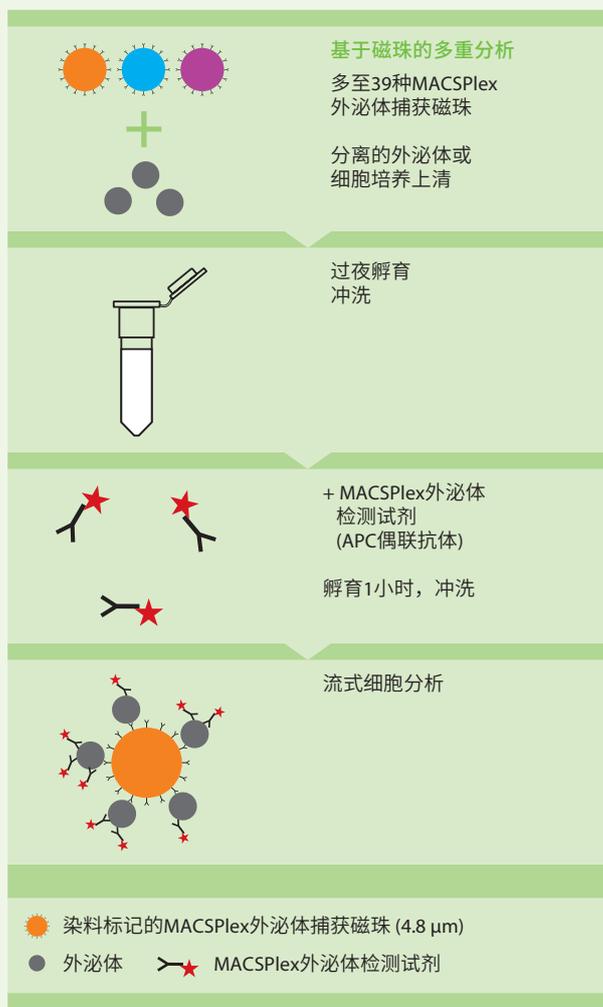


图2: MACSPlex外泌体试剂盒的原理。将分离的外泌体与39种单独标记的MACSPlex外泌体捕获磁珠一起过夜孵育, 每种磁珠偶联了不同的抗体。使用MACSPlex外泌体检测试剂, 通过流式细胞术检测与磁珠结合的外泌体。

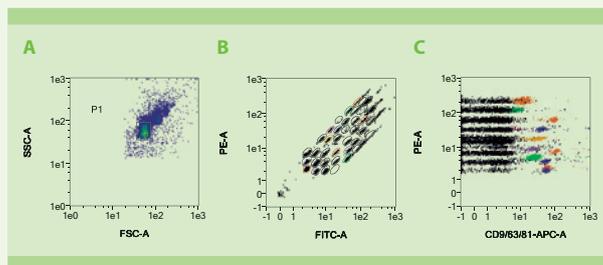


图3: 采用MACSPlex外泌体试剂盒进行外泌体分析。该示例展示了(A) 根据磁珠大小设门, (B) 区分采用不同标记的磁珠群体, 以及(C) 检测单个磁珠群体的信号强度。

## MACSPlex外泌体试剂盒——全面的分析方案

由于EV体积较小, 难以利用标准的流式细胞术进行分析, 阻碍了该领域的发展。为了便于全面分析EV, 美天旋研发出MACSPlex外泌体试剂盒 (MACSPlex Exosome Kit)。这款新型工具能够快速轻松地筛选出EV表面蛋白。

- 独特的多重磁珠平台, 可利用流式细胞术进行EV的蛋白表达谱分析
- 可同时筛选37种表面标志物, 有助于节省宝贵的样本材料
- 可对细胞培养上清或体液中的EV进行分析

## MACSPlex外泌体试剂盒的原理

MACSPlex外泌体试剂盒可同时检测已知存在于不同EV上的37种表位。该试剂盒使用了多种不同荧光标记的磁珠群体, 这些MACSPlex外泌体捕获磁珠 (MACSPlex Exosome Capture Beads) 可通过流式细胞术来区分。

MACSPlex外泌体捕获磁珠群体中的每个磁珠均可与特异性抗体偶联, 这些抗体分别结合于不同的外泌体表位。使用MACSPlex外泌体检测试剂 (MACSPlex Exosome Detection Reagents) —即APC偶联的四次跨膜蛋白CD9、CD63和CD81抗体混合物, 对与MACSPlex捕获磁珠结合的外泌体进行染色。形成的复合物包含 i) MACSPlex外泌体捕获磁珠、ii) 外泌体和 iii) APC偶联抗体 (图2)。然后根据MACSPlex外泌体捕获磁珠和APC偶联抗体的荧光特性对这些复合物进行分析 (图3)。该试剂盒中还包含两种同型对照磁珠, 用于检查非特异性结合。在MACSQuant®流式分析仪上使用Express模式即可轻松进行分析。Express模式简化了实验设置、执行和分析步骤, 即便是缺乏流式细胞术经验的用户也可以进行复杂的外泌体分析。

► [miltenyibiotec.com](http://miltenyibiotec.com)



美天旎生物技术



欢迎访问  
美天旎官方网站



欢迎关注  
美天旎服务号



欢迎关注  
美天旎订阅号

#### 上海办公室

上海市浦东新区张衡路1077号401室

电话: (021) 6235 1005

免费热线: 800-820-2606

#### 北京办公室

北京市朝阳区恒通商务园B10座604室

电话: (010) 6410 7101

产品咨询与技术支持邮箱: [technicalsupportCN@miltenyi.com](mailto:technicalsupportCN@miltenyi.com)

#### 广州办公室

广州市越秀区世界贸易中心大厦南塔2414室

电话: (020) 2237 8592

除特别说明, 美天旎产品和服务仅限于研究用途, 不用于临床或诊断。

MACS and the Miltenyi Biotec logo are registered trademarks or trademarks of Miltenyi Biotec and/or its affiliates in various countries worldwide.  
Copyright © 2020 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.