

# 外泌体纯化，谁与争锋！

## 丰锐生物

外泌体纯化是外泌体研究和应用的先决条件，因此，如何得到大量高浓度的外泌体一直是学术界和工业界关注的核心问题。超速离心法一直被视为外泌体分离的金标准，但超速离心机的高昂费用，以及无法大规模生产的弱点使其只能局限在实验室中使用。尺寸排阻法（SEC）虽然能够得到纯度较高的外泌体，但繁琐的实验流程，以及对实验样品性质的苛刻要求，注定其无法大规模使用。聚乙二醇（PEG）沉淀法虽然简单，但提取的外泌体纯度较低，得不到专业人士的认可，在高分杂志的投稿过程中屡屡碰壁。免疫磁珠（如 CD63 抗体标记磁珠）或亲和磁珠（磷脂酰丝氨酸标记磁珠）也只适用于小体积样品的外泌体纯化，且纯化的外泌体具有一定的局限性。超滤法，或切向流技术虽然能够进行大规模的外泌体分离纯化，但残留的液体使其纯度显著降低，且得到的外泌体的完整性也无法保证。丰锐生物自主研发的外泌体纯化试剂盒是一种创新性的外泌体纯化技术体系，以特定修饰的磁珠为纯化介质，辅助简洁的试剂体系，可以快速的提取高浓度和高纯度的外泌体，且外泌体完整度高，在细胞水平和动物实验中表现明显的生物学功能。因此，与现有的外泌体纯化技术相比，我们的外泌体纯化技术具有明显的优势，包括**样品不用处理（浓缩和稀释），操作流程简单，不需要大型仪器等，最重要的是纯化得到的外泌体浓度和纯度都很高。**

目前，本公司的外泌体纯化技术体系可以直接扩大到中试级别，完成大体积细胞上清中的外泌体纯化，满足外泌体工业生产的需求。同时，在血清和血浆外泌体的纯化体系中，我们使用了自主研发的**蛋白去除试剂**，可以有效清除样品中的杂蛋白（白蛋白和球蛋白等），且不影响外泌体的纯化效率，从而极大提高了外泌体的纯度，促进了血清和血浆外泌体在疾病的临床诊断和术后预测中的使用。

### 1. 外泌体快速纯化试剂盒。（适用于细胞培养上清等样品）

- 细胞培养上清等样品不用浓缩。
- 纯化样品量大（每个试验体系可纯化 20 ml 样品）。
- 快速、简单且不依赖大型实验仪器（90-120 min 完成实验）。
- 纯化的外泌体浓度大，纯度高（可媲美超速离心实验结果）。

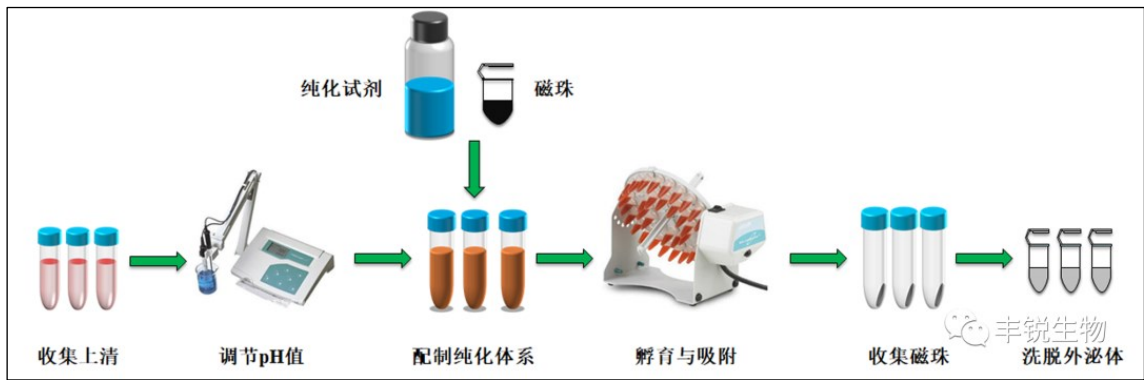


图 1. 细胞培养上清中外泌体纯化流程图

## 2. 纯化的脐带间充质干细胞（MSC）外泌体鉴定。

- 电镜下呈现典型的结构特征（杯托状或扁平圆环状）。
- 背景清晰（杂蛋白含量少）。
- 粒径峰值在 100 nm 左右（符合外泌体大小标准）。
- 外泌体浓度高达  $7 \times 10^9$  Particle/ml。

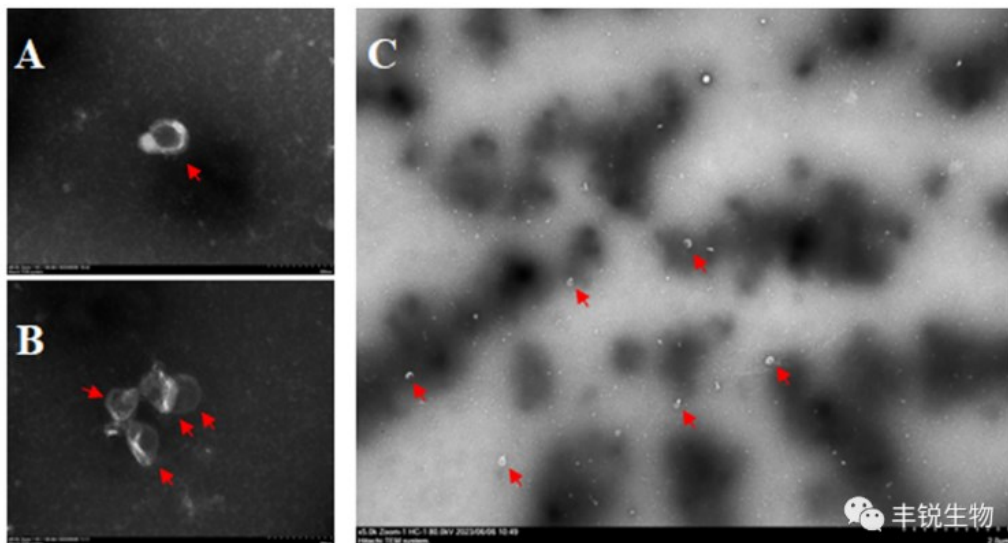


图 2. 脐带间充质干细胞（MSC）外泌体透射电镜图

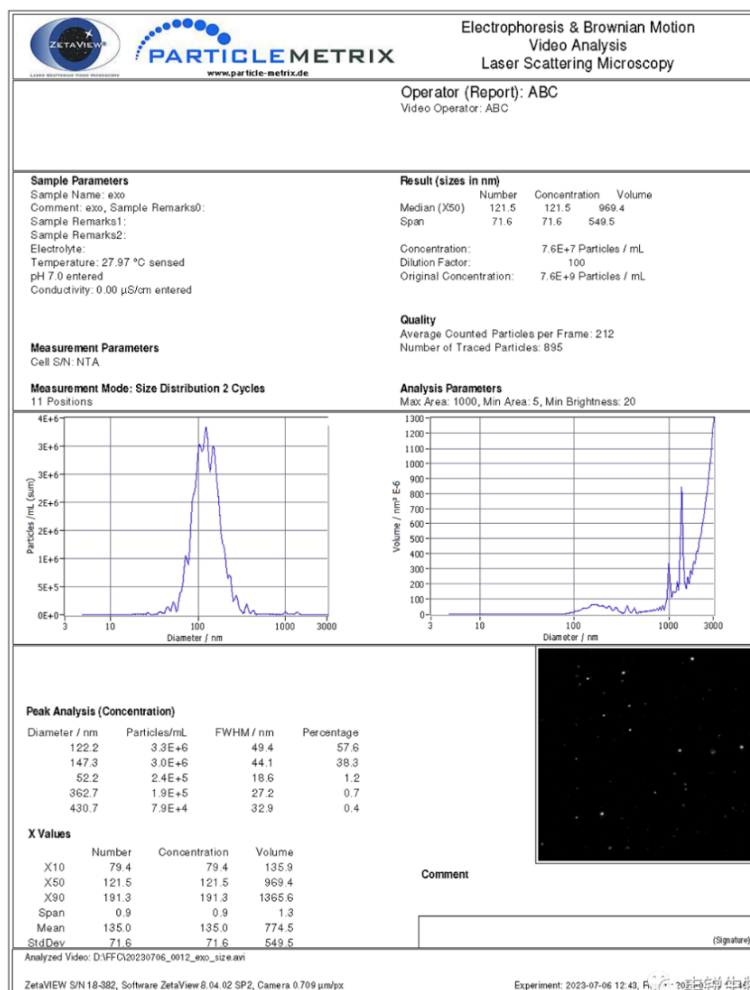


图 3. 脐带间充质干细胞 (MSC) 外泌体的 NTA 检测

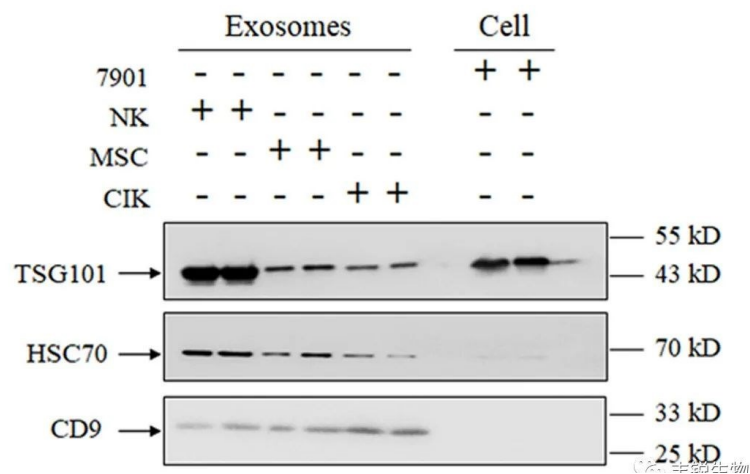


图 4. MSC 外泌体蛋白 Marker 检测

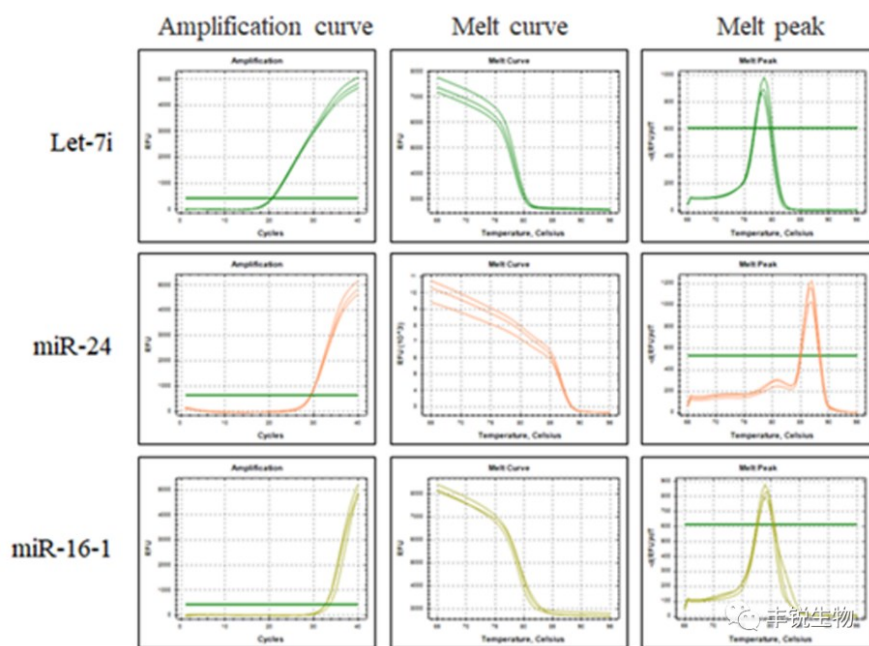


图 5. MSC 外泌体 microRNA 检测

### 3. 血清/血浆外泌体快速纯化试剂盒

- ① 自主研发的蛋白去除试剂，能够去除样品中的杂蛋白，提高外泌体纯度。
- ② 血清、血浆等样品不用稀释处理，直接使用。
- ③ 快速、简单且不依赖大型实验仪器（90-120 min 完成实验）。
- ④ 纯化的外泌体浓度高，量大。

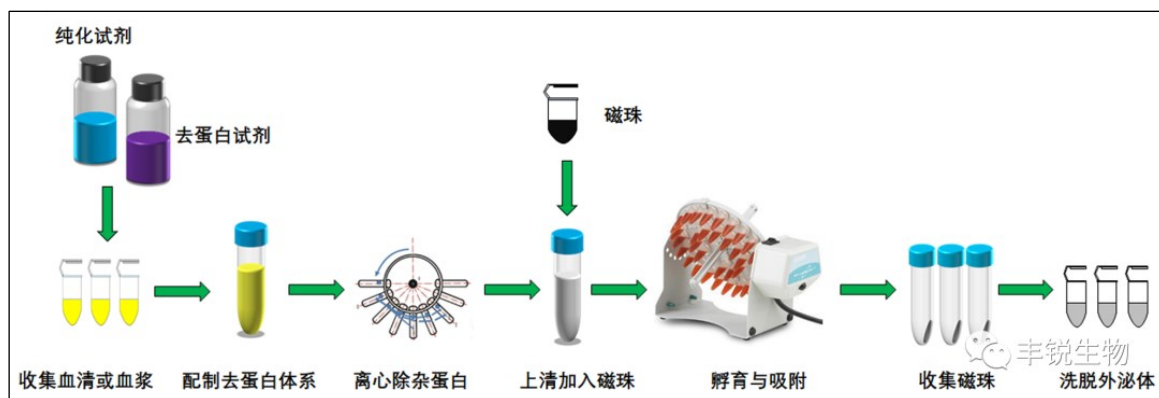


图 6. 血清/血浆中外泌体纯化流程图

### 4. 纯化的血清外泌体鉴定

- 电镜下呈现典型的结构特征（杯托状或扁平圆环状）
- 电镜背景清晰（杂蛋白含量少）
- 粒径峰值在 100 nm 左右（符合外泌体大小标准）
- 外泌体浓度高达  $1.5 \times 10^{12}$  Particle/ml。

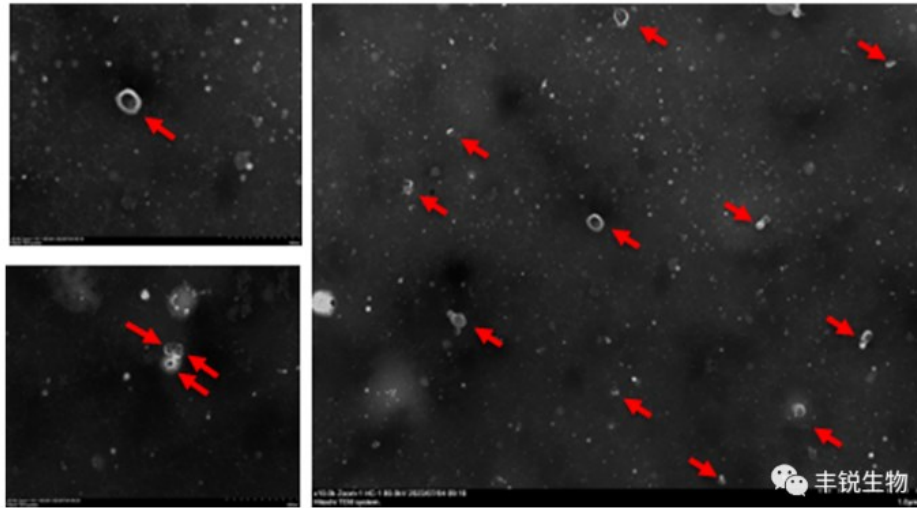


图 7. 血清外泌体透射电镜图。

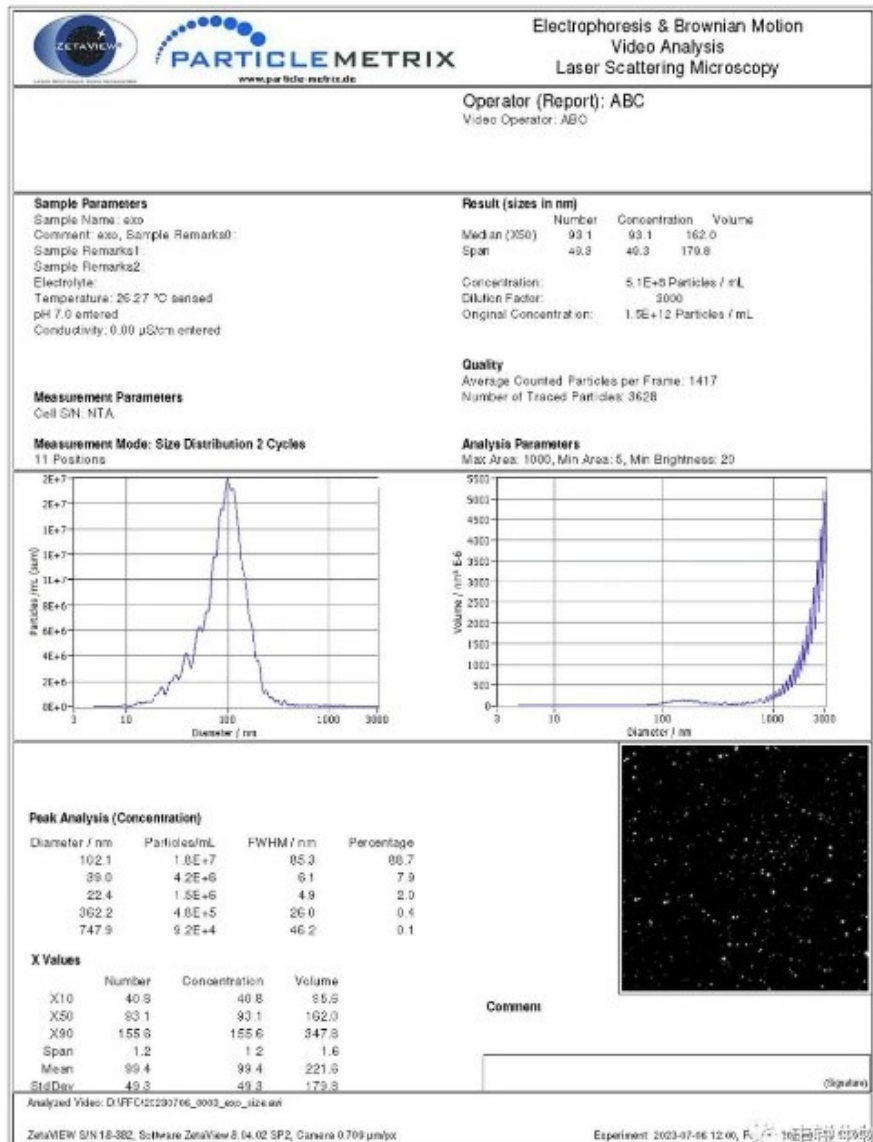


图 8. 血清外泌体 NTA 检测

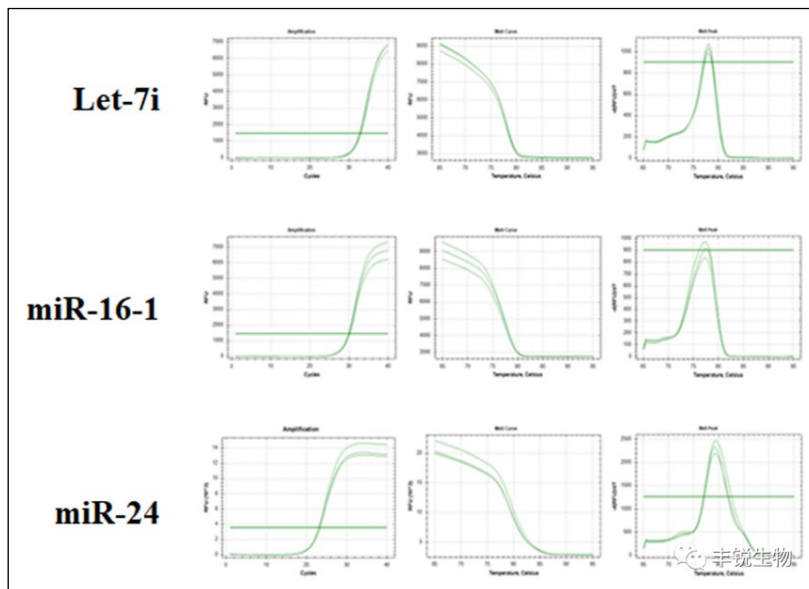


图 9. 血清外泌体 microRNA 检测