

细胞因子诱导的杀伤细胞外泌体

(Exosomes of cytokine-induced killer cells)

CIK 细胞，即细胞因子诱导的杀伤细胞 (Cytokine-Induced Killer, CIK)，是一种新型的免疫活性细胞，同时表达 CD3⁺和 CD56⁺两种膜蛋白分子，故又称为 NK 细胞 (自然杀伤细胞) 样 T 淋巴细胞，兼具有 T 淋巴细胞强大的抗瘤活性和 NK 细胞的非 MHC 限制性杀瘤优点，是新一代的肿瘤过继细胞免疫治疗的首选方案。

本公司生产的 CIK 细胞外泌体，是从脐带血来源的 CIK 细胞的培养上清中纯化而来，电镜下形态特征明显，Western Blot 实验发现其外泌体标志蛋白显著，Zetaview 机器检测发现其粒径在 30-150 nm 范围内，完全符合外泌体的特征。

本公司生产的人细胞因子诱导的杀伤细胞外泌体具有以下特点：

- 1) 活性高。我们利用自己研制的磁珠法提取外泌体，活性高，对肿瘤细胞具有明显的杀伤作用。
- 2) 纯度高。提取的外泌体溶液中只含有 PBS 和外泌体，不含其他杂质。
- 3) 浓度高。浓度达到 10^{10} particles/ml
- 4) 安全性高。实验中使用的试剂都是食品级的，提取的外泌体中不含有毒、有害物质，可直接用于细胞培养或动物注射等实验。

1. 产品规格

1 ml/支，无菌分装。

2. 运输与存储

干冰运输，-20 °C 短期保存 (6 个月)，-80 °C 长期保存 (3 年以上)。

3. 外泌体鉴定

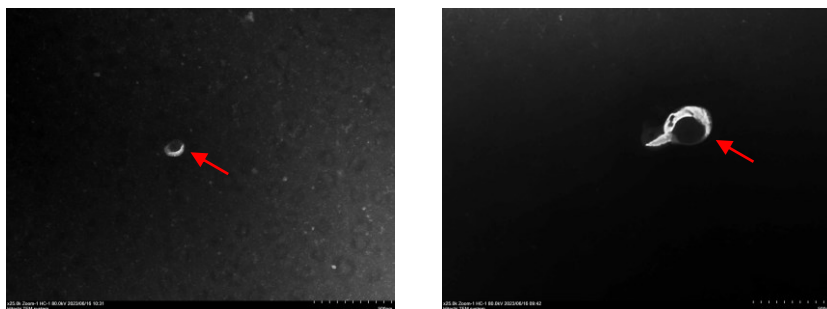


图 1. CIK 细胞外泌体电镜检测

收集 CIK 细胞培养上清，利用本公司的外泌体快速纯化试剂盒 (FRE-01) 提取外泌体，磷钨酸染色，透射电镜检测。结果显示：CIK 细胞培养上清中提取的外泌体，具有典型的扁平圆状或杯托状形态特征。同时电镜背景清晰，说明外泌体的纯度很高。

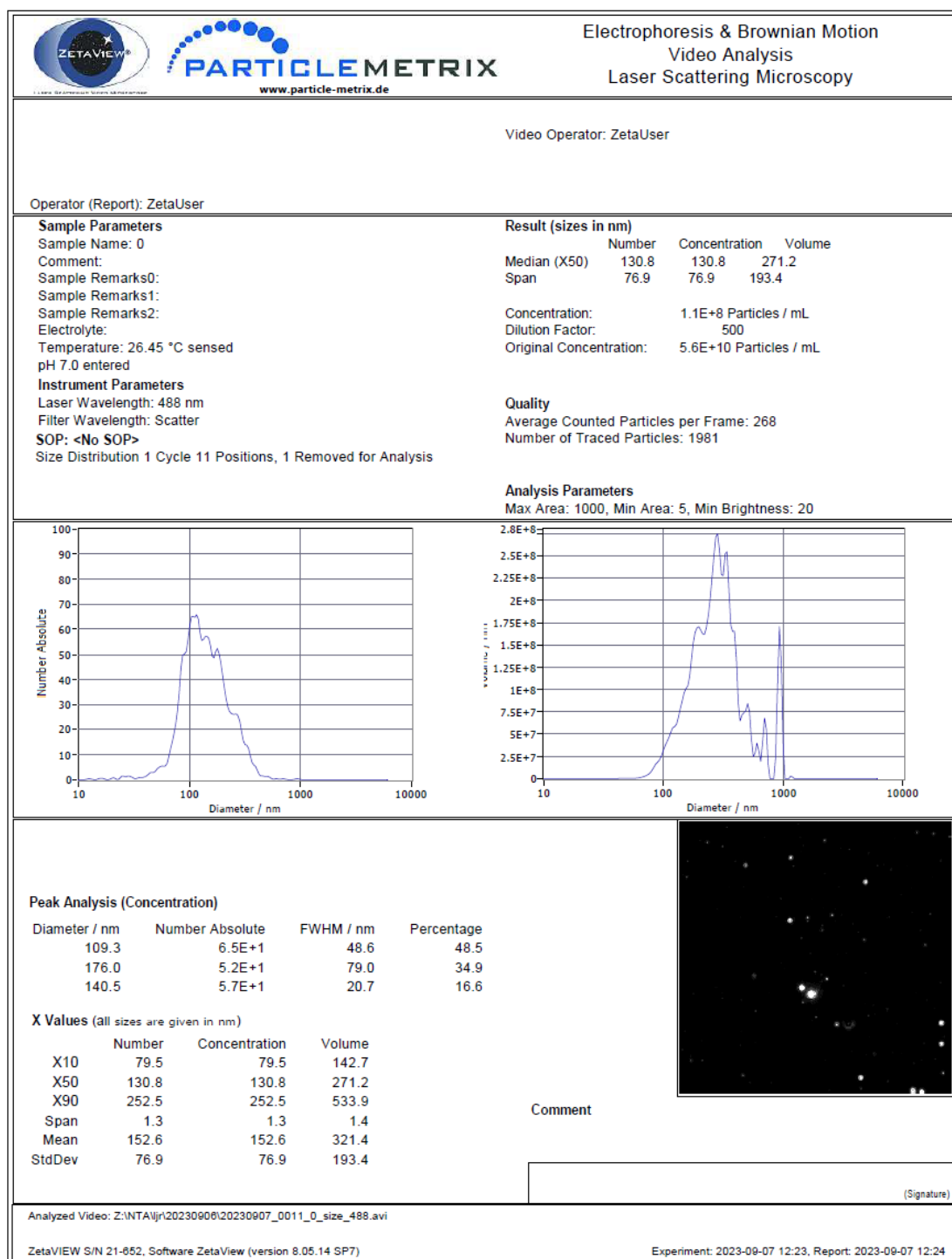


图 2. CIK 细胞外泌体粒径与浓度检测 (NTA)

收集 CIK 细胞培养上清, 利用本公司的外泌体快速纯化试剂盒 (FRE-01) 提取外泌体, 并利用 Zetaview 公司的仪器检测外泌体的粒径等各项参数。结果表明, 提取的外泌体的粒径峰值为 130 nm, 浓度为 5.6×10^{10} particle/ml。

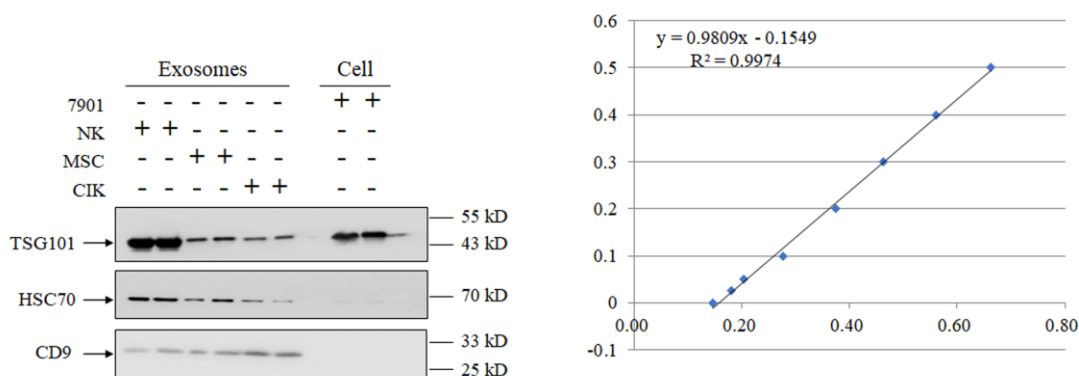


图 3. 三种细胞培养上清中外泌体标志蛋白检测（Western Blot 法）

收集 NK（自然杀伤细胞）、MSC（间充质干细胞）和 CIK（细胞因子诱导杀伤细胞）三种细胞的培养上清，利用本公司的外泌体快速纯化试剂盒（**FRE-01**）提取外泌体，利用外泌体蛋白提取试剂盒（**FRE-03**）提取外泌体蛋白，7901 细胞裂解液作为对照。BCA 法测定蛋白浓度，Western Blot 检测外泌体标志蛋白（Marker），包括 TSG101，HSC70 和 CD9。结果表明三种细胞培养上清提取的外泌体中，标志蛋白明显，背景清晰，说明提取的外泌体纯度高，浓度大。

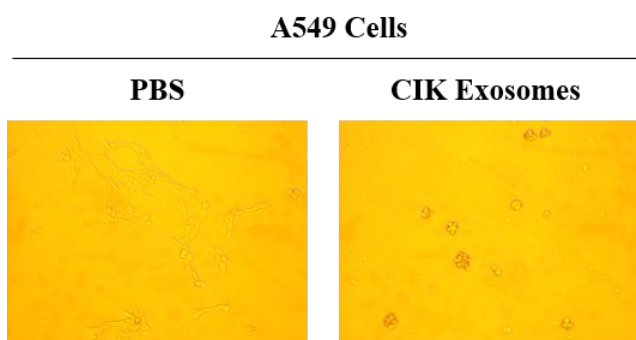


图 4. CIK 细胞外泌体功能验证

A549 胞的传代接种于 6 孔板，无血清细胞培养液培养，24 h 后，加入脐带间充质干细胞外泌体处理，1 ml/孔，对照组加入 1 ml 的 PBS 处理，48 h 后拍照。与对照组相比，CIK 细胞外泌体对 A549 细胞具有显著的杀伤效应。