

Exosome Analysis Small targets, Big challenges

帶領您一窺細胞外囊泡的堂奧
(Exosomes/Extracellular Vesicles, EV)

盟基提供一系列外泌體(Exosome) 流式細胞儀驗證之抗體及胞膜染劑



流式細胞儀專用抗體，標定Exosome一管搞定

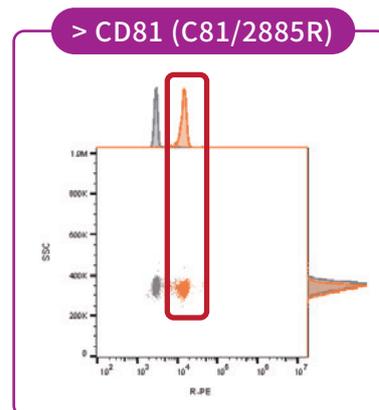
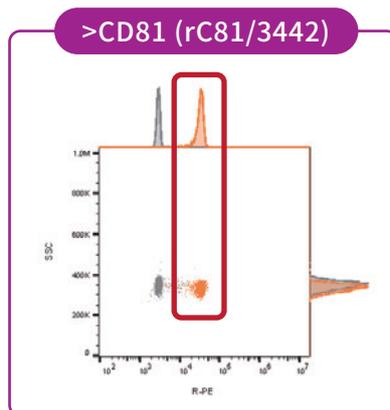
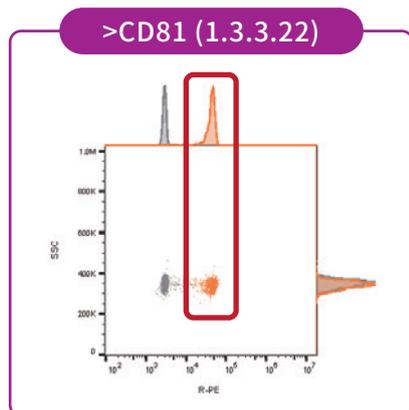
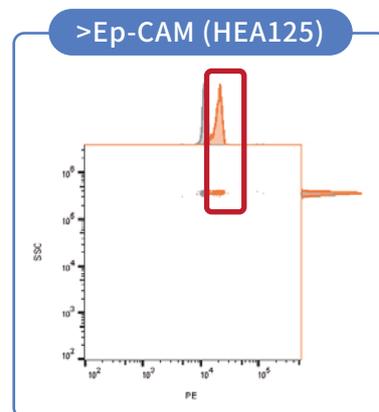
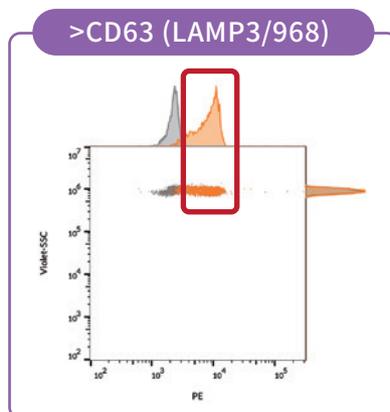
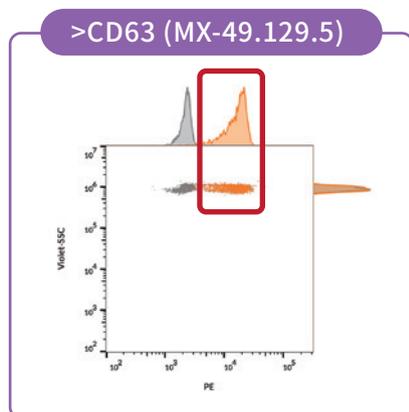
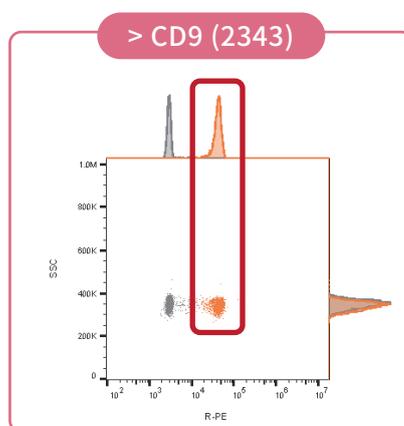
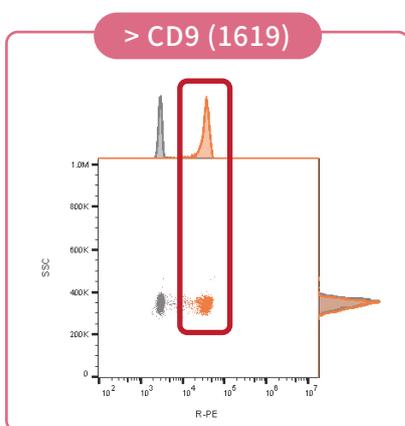
優勢

1. 所有抗體經實驗驗證
2. 使用單株抗體，具絕佳專一性
3. 搭載CF dye螢光亮度強又穩定
4. 應用Flow cytometry逐一分析，一顆不漏

不同的抗體一樣的精準標定，分析Exosome真easy

實例驗證

利用Flow cytometry先行分選出由MCF-7細胞所衍生exosome，再以不同螢光抗體進行標定。
灰色區域：未標定染色；橘色區域：抗體標定染色。(括弧表示抗體clone來源/名稱。)



商品資訊：標定Exosome專用抗體

★ 抗體皆經驗證確認其標定效果 ★

抗體名稱	Clone 名稱	Exosome 前處理驗證		染色強度	螢光選擇	備註
		磁珠分選*1	SEC層析純化*2			
CD9 (human)	CD9/1619 CD9/2343	👍	👍	+++	高亮度CF dye 光譜參照如右圖	推薦使用：螢光染色亮度高
CD81 (human, mouse, rat)	1.3.3.22 rC81/3442					
rabbit CD81 (human, mouse, rat)	C81/2885R			++		效果稍弱於其他 CD81 抗體
CD63 (human, mouse)	MX-49.129.5					
CD63 (human)	LAMP3/968			-		可標定經磁珠分選但未純化之 exosome
Ep-CAM (human)	VU-1D9					
	rVU-1D9					
	EGP40/826+EGP40/837+EGP40/1110+EGP40/1120					
	HEA125					

- CF®405S
- CF®405M
- CF®405L
- CF®488A
- CF®514
- CF®543
- CF®555
- CF®568
- CF®594
- CF®640R
- CF®647
- CF®660C
- CF®660R
- CF®680
- CF®680R
- CF®700
- CF®770

*1. 利用磁珠(CD63-specific magnetic beads <Thermo Fisher Scientific>)搭配Flow cytometry先行分選出由MCF-7細胞衍生exosome
*2. 利用SEC層析管柱<IZON>純化大小相近的MCF-7細胞衍生exosome

新型CF® dye螢光染劑，Exosome胞膜染色一級棒

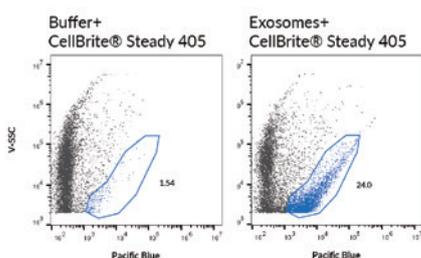
優勢

1. 螢光強度更高：優於目前市面上Alexa Fluor®等多數染劑
2. 背景值更低：CF® dye 負電荷較 Alexa Fluor®, DyLight®, IRDyes®少。去除染劑非專一性吸附，亦不影響抗體等電點
3. 穩定性更高：長時間照射，活性不減
4. 酸鹼耐受性更高：耐受範圍：pH 2~pH 11

應用：Flow cytometry

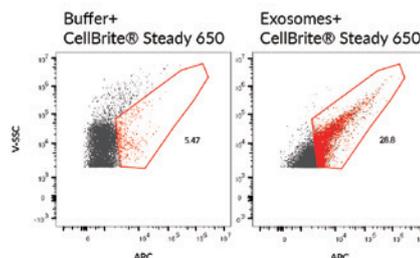
實例驗證：CellBrite®染色細胞外囊泡(exosome)

CellBrite® Steady 405



SEC層析MCF-7細胞所衍生的exosome，利用0.02X CellBrite® Steady 405染色(右圖)，相較於僅有緩衝液的對照組(左圖)：可看見特異性染色結果。
*EVs were detected on a CytoFLEX LX flow cytometer in the Pacific Blue channel.

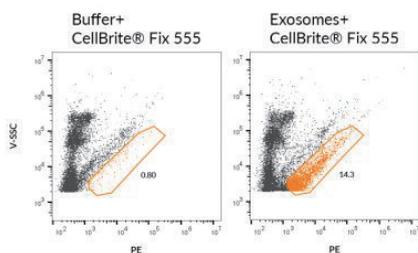
CellBrite® Steady 650



PEG純化HeLa細胞所衍生的細胞外囊泡(EVs)，利用2X CellBrite® Steady 650染色(右圖)，相較於僅有緩衝液的對照組(左圖)：可看見EV特異性染色結果。
*EVs were detected on a CytoFLEX LX flow cytometer in the Pacific Blue channel.

長效型
染劑

CellBrite® Fix 488

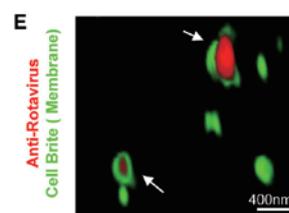


SEC層析MCF-7細胞所衍生的exosome，利用0.5X CellBrite® Fix 555染色(右圖)，相較於僅有緩衝液的對照組(左圖)：可看見exosome特異性染色結果。
*EVs were detected on a CytoFLEX LX flow cytometer in the Pacific Blue channel.

可染色
後固定

“Highlight”期刊文獻引用

Scale bar, 400 nm. Credit: Santiana et al. doi:10.1016/j.chom.2018.07.006



利用CellBrite® Fix 488螢光染劑及rotavirus nucleocapsid抗體針對含有Wa的囊泡進行雙重染色。箭頭所指即為雙重標定的囊泡。

商品資訊： 細胞外囊泡/Exosome膜染劑

染劑名稱	流式細胞儀驗證*1,2	染色強度	已驗證之螢光選擇	備註	
CellBrite® Steady 長效型染劑	V	+++	405, 488, 550, 650, 685	<ul style="list-style-type: none"> 非共價鍵結 染劑對磁珠有非專一結合 	CF®405
MemBrite® Fix 405/430 可染色後固定	PEG-enriched HeLa-derived EVs	+++	405/430	<ul style="list-style-type: none"> 以 Pacific Blue channel 分析 共價鍵結 可能不適合與抗體進行共染 	CF®488
CellBrite® Fix 488 & 555 可染色後固定	V	++	488, 555	<ul style="list-style-type: none"> 以 FITC and PE/Cy3 channel 分析 共價鍵結 可能不適合與抗體進行共染 文獻參考 *3 	CF®550
Di-8-ANEPPS	V	++		<ul style="list-style-type: none"> 以紅色螢光分析 非共價鍵結 溶解度略低於其他染劑 文獻參考 *4,5 	CF®555
					CF®650
					CF®660R
					CF®685

*1. 利用SEC層析管柱<IZON>純化大小相近的MCF-7細胞衍生exosome

*2. 利用磁珠(CD63-specific magnetic beads <Thermo Fisher Scientific>)搭配Flow cytometry先行分選出由MCF-7細胞衍生exosome

*3. Cell Host & Microbe (2018) Aug 8;24(2):208-220.e8 doi: 10.1016/j.chom.2018.07.006

*4. Cytometry A. (2016) Feb;89(2):196-206 doi: 10.1002/cyto.a.22787

*5. Anal. Chem. (2021) 93, 14, 5897-5905 doi.org/10.1021/acs.analchem.1c00253

細胞外囊泡(EV)是由細胞分泌的膜結合小顆粒，被認為具有細胞間傳遞訊息的功能：將物質從一個細胞運送到另一個細胞。具多種亞型，其功能、物質和尺寸各不相同，直徑範圍約 30~1000 nm。最小的 EV 類型是外泌體(Exosome)，大小約為 30~150 nm。EV 起源於稱為多泡體 (MultiVesicular Body, MVB) 的細胞室，其本身源自內體(endosome)的內陷。當 MVB 與細胞質膜融合併釋放其物質時，以囊泡型式被釋放。在生物醫學研究中，外泌體及其攜帶物質被用作癌症和其他疾病的診斷生物標誌物。EV 和外泌體可以使用超速離心、PEG 沉澱和免疫磁珠等技術從血液或其他生物體液中分離出來。

外泌體膜含有源自原始細胞質膜的跨膜蛋白，通常包括四次跨膜蛋白(tetraspanin)家族的蛋白質(如 CD9、CD63 和 CD81)。在內部，外泌體包含蛋白質和RNA等細胞質成分。可以使用 RNAseq、Western blot和flow cytometry等方法分析其成份。

藉由流式細胞分析法，研究人員可以使用針對膜和核酸等外泌體進行染色的螢光染劑，以及與四次跨膜蛋白或其他目標蛋白質結合的抗體。

