

GUIDA AL MONDO DEGLI ESOSOMI

ISOLAMENTO

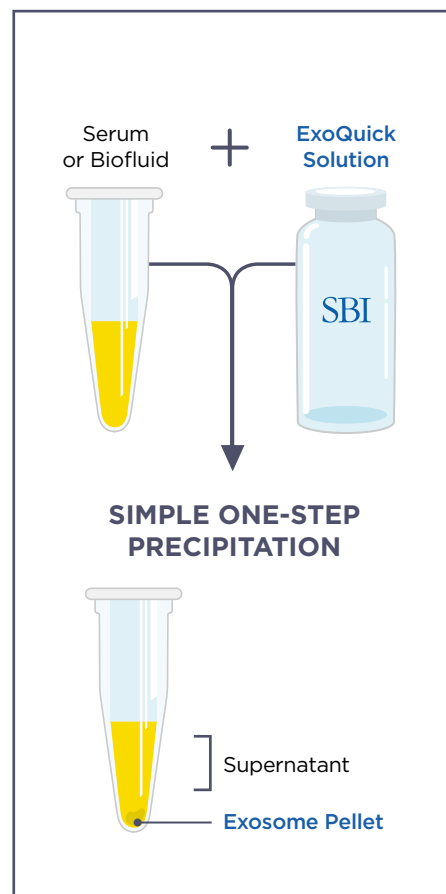
PRECIPITAZIONE POLIMERICA

System Biosciences con la gamma dei prodotti **Exoquick** permette di semplificare l'isolamento di esosomi a partire da diversi biofluidi, senza l'utilizzo di ultracentrifuga, anche per piccoli volumi e numeri elevati di campioni.

- **The Original Exoquick**: per isolamento di esosomi da plasma, siero e altri biofluidi
- **Exoquick-LP**: include un pretrattamento per la rimozione delle lipoproteine in plasma e siero
- **Exoquick PLUS**: per isolare esosomi destinati per esempio all'analisi in spettrometria di massa o per applicazioni in vivo
- **Exoquick Plasma Prep**: ottimizzato per isolamento da plasma, include la trombina per rimuovere la fibrina dal campione
- **Exoquick-CG**: per isolare esosomi destinati all'utilizzo in clinica, prodotto secondo le norme cGMP
- **ExoURINE**: specifico per isolare esosomi da urine, tramite un processo di cromatografia size-exclusion
- **Exoquick ULTRA ed Exoquick-TC ULTRA**: per massimizzare la resa di purificazione degli esosomi
- **Exoquick-TC**: per isolamento di esosomi da terreno di coltura e urine

NOTA IMPORTANTE:

Per questa applicazione, Euroclone consiglia **Exosome Depleted FBS**, siero fetale bovino depleto degli esosomi attraverso un processo di ultrafiltrazione. Il suo utilizzo impedisce l'interferenza tra gli esosomi provenienti dalla coltura cellulare in studio e quelli naturalmente presenti nel siero bovino.



CARATTERIZZAZIONE

ESTRAZIONE DEGLI ACIDI NUCLEICI ESOSOMALI

Per l'estrazione di RNA, **SBI** propone **ExoQuick Exosome RNA Purification Column Kit**, specifico per la purificazione di RNA totale a partire da esosomi isolati sia da biofluidi che da terreno di coltura.

In alternativa, **Zymo Research** offre **Quick-cfRNA Serum&Plasma** per l'isolamento di RNA da siero/plasma o da esosomi isolati da queste matrici.

XCF Exosomal DNA Isolation Kit di **SBI** è il kit indicato per estrarre DNA a partire da esosomi ottenuti con qualsiasi metodo. È compatibile con esosomi purificati da siero, plasma, urine, terreno di coltura.

Il kit **Quick-cfDNA Serum&Plasma** di **Zymo Research** è invece specifico per esosomi isolati da siero/plasma e può essere utilizzato anche per isolamento di DNA libero circolante.

QUANTIFICAZIONE DEGLI ACIDI NUCLEICI

Gli RNA associati ad esosomi sono molteplici (microRNA, tRNA, rRNA, mRNA, lncRNA) e possono essere analizzati mediante qPCR o NGS. Mediante i PCR array e i service

di microarray ed NGS proposti da **Arraystar**, è possibile quantificare il contenuto di RNA esosomali. Scopri tutte le opportunità di profiling alla pagina arraystar.com

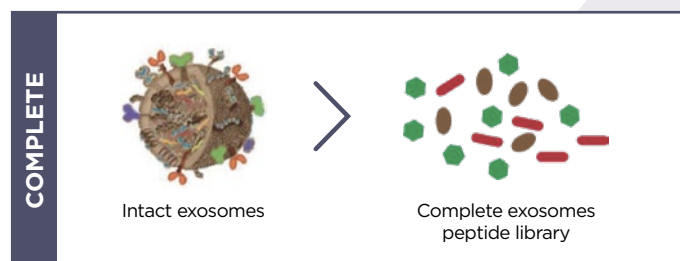
I kit **NEBNext** (**New England Biolabs - NEB**) consentono la preparazione di library di DNA, RNA e smallRNA per piattaforma NGS Illumina, a partire da:

- 100pg di DNA (**NEBNext Ultra II FS Library Prep kit**)
- 2pg di RNA o singola cellula (**NEBNext Low Input/Single Cell Library Prep Kit**)
- 5ng di RNA depleto da RNA ribosomali (**NEBNext Ultra II RNA Library Prep kit**)
- 100ng di RNA (**NEBNext smallRNA Library Prep Kit**)

I protocolli sono ottimizzati per massimizzare la resa e minimizzare l'introduzione di variabili tecniche, i tempi di hands-on e i tempi di preparazione della library.

CARATTERIZZAZIONE DELLE PROTEINE ESOSOMALI

Per lo studio delle proteine esosomali, totali o di superficie, tramite LC/MS sono disponibili **ExoMS Total Protein Capture Kit** e **ExoMS Surface Protein Capture Kit** di **SBI**. I kit sono compatibili con esosomi isolati con qualsiasi sistema, a partire da siero/plasma e biofluidi o da terreno di coltura ed urine



RILEVAZIONE E QUANTIFICAZIONE

WESTERN BLOT

Anticorpi (**Exo-Ab**) ed array (**ExoCheck**) specifici permettono di caratterizzare gli esosomi in base alle proteine di superficie. SBI fornisce anticorpi sia per i tipici marcatori esosomali (CD63, CD9, CD81, HSP70), sia per esosomi tessuto specifici (ALIX, ANXA5 CXCR4, EPCAM, ecc), disponibili singolarmente oppure in kit. **Exosomal Marker Antibody Sampler Kit** di *Cell Signaling Technology (CST)* permette di analizzare 10 marcatori esosomali in una unica soluzione.

CITOFLOREMETRIA E SORTING

Con **ExoFlow** di *SBI* è possibile caratterizzare le sottopopolazioni di esosomi, utilizzando biglie magnetiche coniugate con anticorpi per antigeni di superficie esosomali, per ottenere cluster di dimensioni maggiori, che risultano così visibili al citofluorimetro.

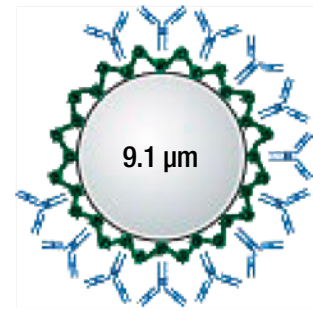
Sono disponibili kit anti CD63, CD9, CD81, HSP70.

Le stesse beads possono essere impiegate per immunoprecipitazione.

QUANTIFICAZIONE

Per quantificare gli esosomi in modo rapido e sensibile, sono disponibili **ExoELISA** ed **ExoELISA-ULTRA** di *SBI*, per quantificazione delle proteine di membrana esosomali, mentre **ExoCET** misura l'attività dell'Acetil-CoA Acetilcolinesterasi, marcatore tipicamente esosomale, tramite un saggio colorimetrico diretto. Ogni kit include lo standard di peptidi esosomali purificati per la curva di calibrazione. **FluoroCET** è un sistema analogo ad **ExoCET**, ma con readout fluorescente, fino 7 volte più sensibile.

Exo-Flow Beads



CD9, CD63, CD81, CD31, HLA-G, Rab5b
or other immune or cancer exosome markers



Biotin-conjugated
Capture Antibody



Covalently cross-linked
streptavidin



Outer core hydrophilic
polymer surface



Iron magnetite central layer

STUDI FUNZIONALI

MARCATURA E TRACKING

Con i reagenti **ExoGlow** è possibile marcare proteine, RNA esosomali o direttamente la membrana esosomale, *in vitro* ed *in vivo*. Disponibili anche staining fluorescenti specifici per l'indagine tramite Nanosight.

Per monitorare gli esosomi prodotti da un determinato tipo cellulare, *SBI* propone gli **Cyto-Tracer**, vettori lentivirali per l'ottenimento di linee stabili in grado di produrre esosomi esprimenti proteine di membrana marcate con GFP. Con **XPack** invece è possibile effettuare il packaging della GFP negli esosomi e seguirne il tracking.

TRASFEZIONE

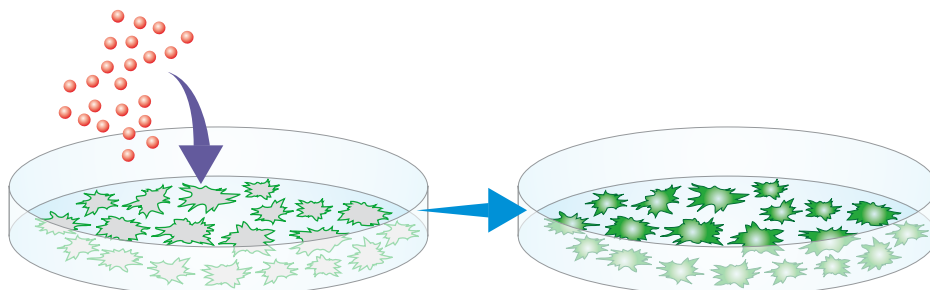
Gli esosomi possono essere utilizzati come veicoli per il trasporto di molecole, acidi nucleici e proteine. Con i prodotti *SBI* è possibile ingegnerizzare gli esosomi per:

- Esprimere miRNA ed anti-miRNA specifici tramite l'utilizzo di **XMIR** e **AXMIR**. Disponibili come RNA Oligo ad RNA o come plasmidi, una volta trasfettati sfruttano i normali sistemi di packaging degli esosomi per caricare l'esosoma di uno specifico miRNA o anti-miRNA
- Trasfettare acidi nucleici, plasmidi e proteine utilizzando **ExoFect**. Gli **EV Shuttle Kit (SBI)** combinano ExoFect ed esosomi purificati con uno scramble siRNA fluorescente per monitorare l'efficienza di trasfezione. L'uso dell'enhancer **EV-Entry (SBI)**, migliora l'efficienza di uptake degli esosomi trasfettati nelle cellule target.
- Ottenere esosomi che targettano specifici tessuti con **XSTAMP**, costrutti lentivirali che esprimono proteine specifiche per diversi tipi cellulari. Utilizzando esosomi ingegnerizzati con **XSTAMP**, è possibile veicolare RNA, DNA o proteine verso antigen presenting cells, neuroni, cellule tumorali. Disponibili anche vettori di clonaggio ed espressione per una completa customizzazione.

1 Transfect **XMIR** oligos or **Xpress** clones into producer cells

2 Harvest packaged exosomes with **ExoQuick-TC™**

3 Add **XMIR** packaged exosomes to deliver to target cells



ISOLAMENTO

SBEXOQ5A1	Exoquick Serum Exosome Precipitation Solution (5 ml)	75 reazioni
SBEXOQ5TM	Exoquick Plasma Prep with Trombin	75 reazioni
SBEQULTRA20A1	ExoQuick® ULTRA EV Isolation Kit for Serum and Plasma	20 reazioni
SBEQPL10A1	Exoquick PLUS	10 reazioni
SBEXOU100A1	Exo-Urine EV Isolation Kit	10 reazioni
SBEXOTC10A1	Exoquick - TC for Tissue Culture Media and Urine (10 ml)	10 reazioni
SBEXOCG50A1	Exoquick - CG cGMP Grade Exosome Isolation Reagent (50 ml)	30 reazioni
SBEXOLP5A1	Exoquick - LP Lipoprotein Pre - Clear & Exosome Precipitation Kit	5 reazioni
ECS8001D/L	Exosome depleted FBS	100ml/500ml

Lista completa dei prodotti e formati disponibili al link: <https://www.systembio.com/products/exosome-research/exosome-isolation/>

RILEVAZIONE E QUANTIFICAZIONE

SBEXOABKIT1	ExoAb Antibody Kit (CD 9, CD 63, CD 81, HSP 70)	25 µl each
SBEXORAY200A4	Exo-Check Exosome Antibody Array	4 arrays
SBEXORAY500A4	Exo-Check Exosome Antibody Array (Neuro)	4 arrays
BK74220T	Exosomal Marker Antibody Sampler Kit	10 reazioni
SBEXOCET96A1	Exocet Exosome Quantification Kit	96 reazioni
SBFCET96A1	Fluorocet Exosome Quantification Kit	96 reazioni
SBCSFLOWBASICA1	Basic Exo-Flow kit without any coupled antibodies	100 reazioni
SBEXCELCD9A1	Exosome ELISA Complete Kit (CD9 Detection)	96 reazioni
SBEXCELULTRACD63	ExoELISA ULTRA Complete Kit (CD63 Detection)	96 reazioni
SBEXCELULTRACD81	ExoELISA ULTRA Complete Kit (CD81 Detection)	96 reazioni

Lista completa dei prodotti e formati disponibili al link: https://www.systembio.com/products/exosome-research/exosome-quantitation/#browse_all

CARATTERIZZAZIONE

SBEQ808A1	ExoQuick Exosome RNA Purification Column Kit	20 reazioni
ZYR1059	Quick-cfRNA Serum&Plasma	50 reazioni
SBXCF200A1 XFC	Exosomal DNA Isolation Kit	20 reazioni
ZYD4076	Quick-cfDNA Serum & Plasma Kit	50 reazioni
BE7805S/L NEBNext® Ultra II	FS DNA Library Prep kit for Illumina®	24/96 reazioni
BE7645S/L NEBNext® Ultra II	DNA Library Prep kit for Illumina®	24/96 reazioni
BE7420S/L NEBNext® Ultra™	Directional RNA Library Prep Kit for Illumina®	24/96 reazioni
BE7300S/L NEBNext® Ultra™	Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina®	24/96 reazioni
SBEXOMS120A8	ExoMS Total Protein Capture Kit	8 reazioni
SBEXOMS100A8	ExoMS Surface Protein Capture Kit (Serum/Plasma)	8 reazioni

STUDI FUNZIONALI

SBEXOGP300A1	ExoGlow Protein EV Labeling Kit (Green)	20 reazioni
SBEXOGLV900A1	ExoGlow-Vivo Labeling Kit (Near-IR)	12 reazioni
SBCYTO122PA1	pCT-CD9-GFP (pCMV, Exosome/Secretory, CD9 Tetraspanin Tag)	10ug
SBXPAK730PA1	XPack MSCV-XP-GFP-EF1a-Puro Expression Lentivector	10ug
SBXMIR21	XMIR-21 RNA oligo miRNA-21-5p	10 reazioni
SBAXMIR21	AXMIR-21 RNA oligo miRNA-21-5p	10 reazioni
SBEXFT10A1	Exo-Fect Exosome Transfection Kit	10 reazioni
SBEVEN110A1	EV-Entry System for Exosome Delivery	10 reazioni
SBXSTP710PA1	XStamp Cloning and Expression Lentivector	10ug

Lista completa dei prodotti e formati disponibili al link:

https://www.systembio.com/products/exosome-research/exosome-labeling/#browse_all

<https://www.systembio.com/products/imaging-and-reporter-vectors/cyto-tracers/>

https://www.systembio.com/products/exosome-research/exosome-engineering/#browse_all