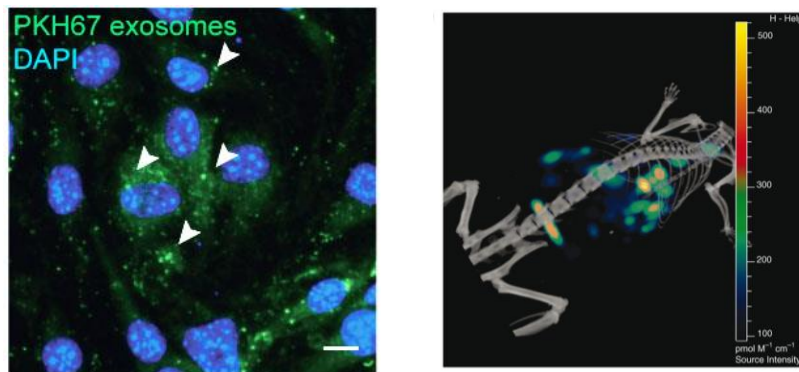


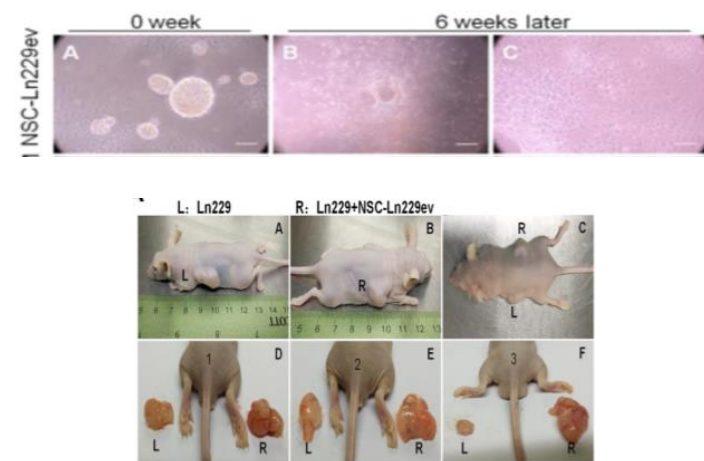
01 外泌体标记或示踪

目前常用亲脂性染料对外泌体进行标记，亲脂性染料主要包括两类，一是PKH67（绿色）和PKH（红色），二是DiI（橙色荧光）、DiO（绿色荧光）、DiD（红色荧光）、DiR（深红色荧光）。



02 体内外功能研究

将标记的外泌体加入受体细胞培养基中，与受体细胞进行共培养，观察细胞的功能变化，或者将外泌体注射入动物模型，观察动物表型变化和检测动物相关指标。



图片来源: Wang Jian et al., Cancer letter. 2019

外泌体研究 整体解决方案



杭州百替生物技术有限公司



扫一扫 加入公众号

官方电话: 400-611-2850 邮箱: service@100biotech.com

总部地址: 浙江省杭州市庆春路西子国际中心C座30层

分部地址: 北京市东城区东四南大街157号7层

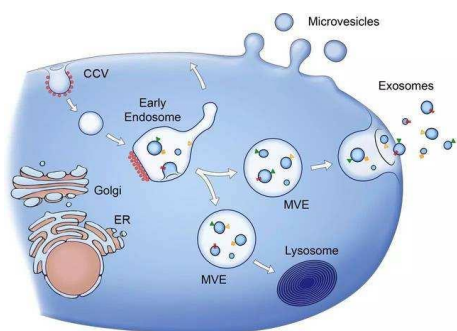
官方网址: www.100biotech.com

让医学科研更轻松

外泌体简介

01 什么是外泌体

外泌体是来源于细胞质膜内陷的含有脂质双分子层膜结构的多泡小体，直径约为30-150nm，由细胞内的多囊泡体外膜与细胞膜融合后以外分泌的形式释放到细胞外基质中，广泛存在于细胞培养上清以及各种体液中。



图片来源: 《The Journal of Cell Biology》

02 为什么研究外泌体

外泌体广泛参与细胞间物质运输与信息传递，调控细胞生理活动。同时，外泌体具有抗原提呈、免疫逃逸、诱导正常细胞转化、促进肿瘤发生和转移等作用。此外，外泌体还可以作为“天然的纳米粒子”进行药物递送。

03 外泌体相关数据库有哪些

- exoRBase数据库收集和描述人类血液外泌体中所有长的RNA，包括circRNA、lncRNA和mRNA；
- EVpedia和Vesiclepedia数据库汇总了不同囊泡研究中发现的蛋白、mRNA、miRNA、脂类等信息；
- ExoCarta数据库主要收录了包括人、大鼠、小鼠、绵羊等几个物种的286个研究结果，涉及蛋白、mRNA、miRNA、脂类等信息。

外泌体研究思路

01 样品收集与预处理

外泌体存在于人类或动物的各种体液中，我们可以选择不同的样本来源进行相关的外泌体研究。为了获得高纯度的外泌体，必须确保有效去除所有的细胞碎片及其他杂质。



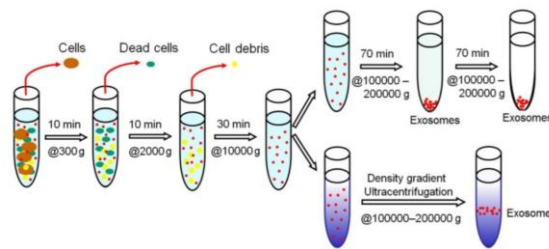
不同的实验样本采集时需要注意不同地方，如细胞培养上清在收集样本前需换成无外泌体血清培养24-48h、血浆样本采集时一定不能用肝素抗凝管、尿液收集时需要加抑菌剂等。

02 外泌体分离与保存

从生物体液中分离外泌体的各种方法已经被开发出来，主要根据外泌体的大小、密度、免疫特性等特点进行操作。分离出高纯度的外泌体是我们后续开展外泌体研究的关键步骤，目前分离外泌体的方法主要包括以下几种



以上分离外泌体的方法各有优缺点，但从Science、Nature和Cell杂志发表的文章来看，差速超速离心技术仍然是最常见技术之一。



图片来源: Li et al., Theranostics. 2017

提取的外泌体在短时间（一周以内）使用，可以放在4°C保存，如果需长时间保存可以放在-20°C或-80°C中。

03 外泌体鉴定

外泌体分离之后，需要经过一系列从物理特征到表面分子标记物的多角度鉴定才能确定分离的是外泌体。

透射电镜鉴定法(TEM)

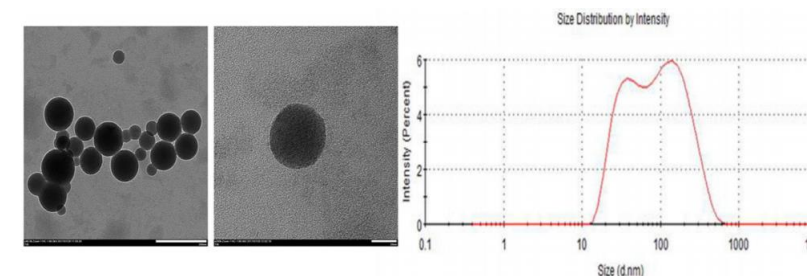
适合外泌体双层囊膜超微结构观察，即通常为茶托型或一侧凹陷的半球形；

纳米颗粒跟踪分析法(NTA)

该方法能保证外泌体原始状态且检测速度快，检测后能提供外泌体粒径和浓度信息；

Western Blot分子标志物检测

四跨膜蛋白家族，如CD9、CD63和CD81
细胞质蛋白，如肌动蛋白(Actin)和钙磷脂结合蛋白(Annexins)
参与生物功能的分子，如凋亡转接基因2互作蛋白X (ALIX)
肿瘤易感基因101蛋白(TSG101)
热休克蛋白 (HSP70、HSP90)



图片来源: Wang Jian et al., Cancer letter. 2019

04 外泌体分子检测

外泌体含有与细胞来源相关的核酸和蛋白质，可以运输mRNA、miRNA、lncRNA、circRNA、蛋白质等进入受体细胞，参与细胞间通讯。不同细胞来源的外泌体所含有的RNA和蛋白成分不太相同，可作为多种疾病的早期诊断标记物，也可作为治疗靶点实现疾病治疗。

