

# Exosome 檢測對於 醫藥領域的貢獻

細胞外囊泡 (Extracellular Vesicles, EVs) 是細胞釋放的各種帶有膜結構的囊泡統稱。根據粒徑大小和形成方式的不同，它們可分為外泌體、微囊泡和細胞凋亡小體。在這三種細胞外囊泡中，外泌體 (Exosome) 的粒徑分佈最為均勻，成分最複雜，功能亦最多樣，因此它的研究價值和實際應用價值很高，對其研究也相對廣泛和深入。

近年來，隨著外泌體研究的不斷深入，對其應用的研究也變得更加豐富和多樣化。在醫學領域，研究者發現外泌體與多種疾病的發生和發展相關，因此它們可能作為疾病診斷和預測的生物標誌物。在藥學領域，外泌體因其特有的雙層膜結構和良好的生物相容性，可用作造影劑或藥物的傳送載體。

鑒別外泌體的來源是多種且多樣的，因此有必要確定分離得到的成分是否確實為外泌體。鑒別外泌體的方法包括物理分析和化學分析兩類：

物理分析方法包括納米顆粒追蹤分析 (NTA)、動態光散射 (DLS)、透射電子顯微鏡或掃描電子顯微鏡 (TEM/SEM) 以及可調電阻脈沖感測，主要以外泌體的粒徑分佈和形態進行檢測。

化學分析法則包括流式細胞檢測方法，西方墨點法以及酵素免疫分析法，主要對外泌體的生物標誌物進行檢測。

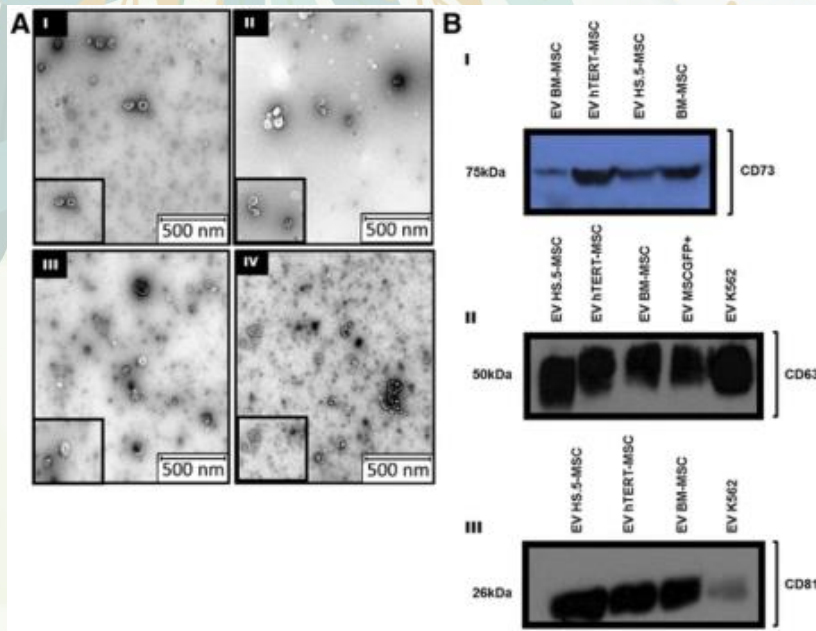
國際細胞外囊泡學會 (ISEV) 在2014年提出，在檢測代表性外泌體時，會使用WB檢測生物標誌物，NTA檢測粒徑大小及透射電鏡檢測顆粒形態三種方法來互相印證。其中用WB方法檢測外泌體的過程中，應遵循“三陽一陰”的規則，即至少需要檢測三種陽性蛋白質標記，包括至少一種跨膜/脂質結合蛋白，一種細胞質蛋白和至少一種陰性蛋白質標記。常見的外泌體生物標誌物包括：CD63、CD81、CD9、HSP70、HSP90、TSG101、ALIX、Actin、Annexins等。在2018年，MISEV更新了對外泌體表徵的要求，在保留“三陽一陰”的基礎上，豐富了需要進行檢測的蛋白類型，並強調了陰性對照檢測和純度檢測的重要性。

對於實驗結果呈現，Cytiva的成像系統可以提供影像拍攝，幫助蛋白質研究實驗的順利進行。一些應用案例包含如下：

#### 案例一：間質幹細胞的外泌體特徵

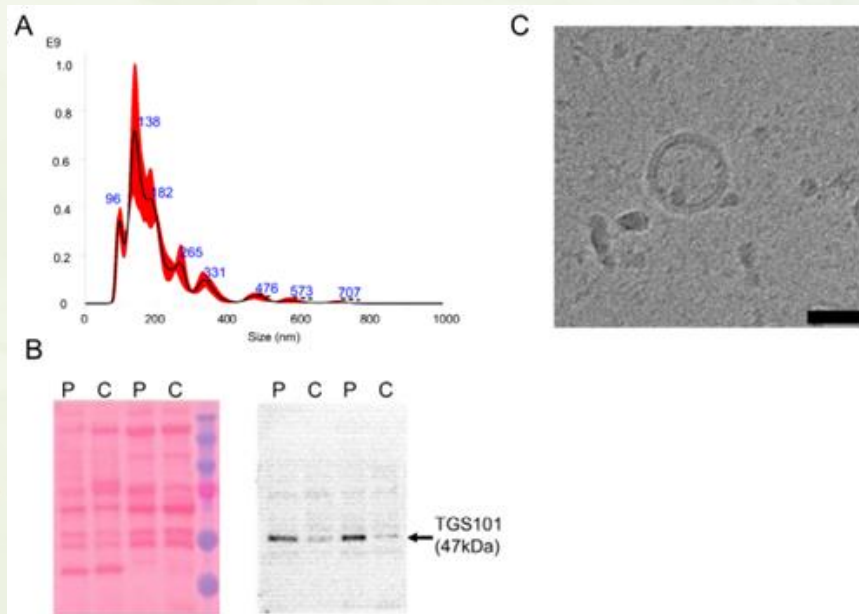
研究者從骨髓間質幹細胞中分離外泌體，透過透射電鏡觀察其形態，並透過Western Blot檢測外泌體標誌物CD63、CD81以及間質幹細胞標誌物CD73。實驗結果表明示，從透射電鏡觀察到大小不一的雙層囊泡 (圖1A)。根據Western Blot結果，CD61、CD81、CD73都有明顯的表現 (圖1B)。





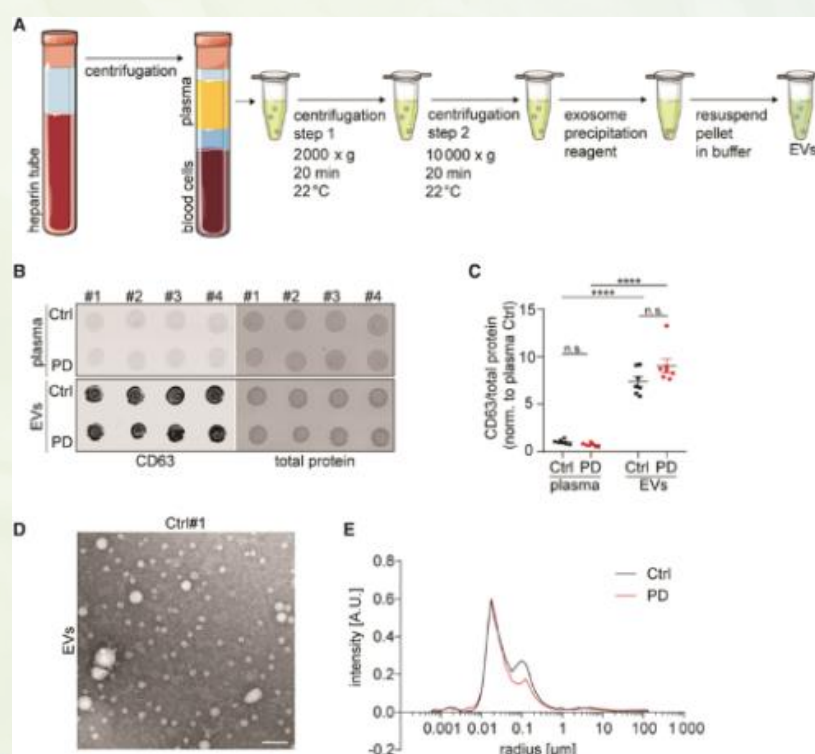
案例二：使用外泌體作為含碘顯影劑載體標記腫瘤部位

含碘的顯影劑常用於CT檢查，但由於顯影劑無法標記，檢測腫瘤的能力受限制。研究者使用外泌體作為含碘顯影劑的載體，通過MISEV2018要求的方法鑒定分離得到的外泌體，包括粒徑大小 (圖2A)、形態 (圖2B) 和生物標誌物TSG101 (圖2C)。結果顯示，外泌體可以當作含碘造影劑的有效載體。



### 案例三：從帕金森患者血漿中分離外泌體並檢定

除了使用WB等常規方法檢測外泌體，也有研究者使用斑點印迹法 (Dot Blot) 來分析帕金森患者血漿中的外泌體。研究者採集了帕金森病患者和對照組的血液樣本，經過多步離心和沉澱試劑處理後，純化得到外泌體 (圖3A)。接下來，他們對血漿樣品和血漿來源的外泌體進行生物標誌物的Dot Blot分析。他們使用CD63作為一抗，接著使用螢光二抗，最後使用Cytiva Typhoon雷射掃描成像儀進行成像 (圖3B)。使用總蛋白對CD63訊號強度進行Normalization，每個點代表一名帕金森病患者或對照者 (圖3C)。實驗結果顯示，相較於血漿樣品，純化得到的外泌體中CD63含量更高。此外，研究者還使用透射電子顯微鏡 (圖3D)和粒徑分佈測試(圖3E)對純化得到的外泌體進行鑒定，結果皆說明了分離得到的組分符合外泌體的基本特徵。





高靈敏度的 Cytiva 的成像系統不僅在外泌體研究中頻頻亮相，也活躍在其他的蛋白質研究領域，是廣大科研工作者的好幫手。如果還在為選購好用的成像系統而擔憂，不妨試試 Cytiva 成像系統，以提高實驗成相結果的品質。

#### 參考資料:

1. Théry, C., Witwer, K. W., Aikawa, E., Alcaraz, M. J., Anderson, J. D., Andriantsitohaina, R., ... & Jovanovic-Talisman, T. (2018). Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *Journal of extracellular vesicles*, 7(1), 1535750.
2. Ramos, T., Sánchez-Abarca, L. I., Muntión, S., Preciado, S., Puig, N., López-Ruano, G., ... & del Cañizo, C. (2016). MSC surface markers (CD44, CD73, and CD90) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry. *Cell Communication and Signaling*, 14(1), 1-14.
3. Vincenti, S., Villa, A., Crescenti, D., Crippa, E., Brunialti, E., Shojaei-Ghahrizjani, F., Rizzi, N., Rebecchi, M., Dei Cas, M., Del Sole, A., Paroni, R., Mazzaferro, V., & Ciana, P. (2022). Increased Sensitivity of Computed Tomography Scan for Neoplastic Tissues Using the Extracellular Vesicle Formulation of the Contrast Agent Iohexol. *Pharmaceutics*, 14(12), 2766.
4. Kluge, A., Bunk, J., Schaeffer, E., Drobny, A., Xiang, W., Knacke, H., ... & Zunke, F. (2022). Detection of neuron-derived pathological  $\alpha$ -synuclein in blood. *Brain*, 145(9), 3058-3071.