**基于质谱成像信号放大技术的外泌体表面蛋白标志物分析**

**王宇宁、乔亮、刘宝红**

**复旦大学**

**目的：**外泌体被认为是癌症诊断的潜在标志物，它表面携带了很多种蛋白标志物，这些蛋白质参与了许多重要的生物过程。由于母细胞种类和所处环境的不同，外泌体常常表现出差异性，这一差异性很大程度表现在外泌体蛋白质表达水平方面，因此，不同种癌细胞外泌体表面蛋白标志物的研究对于癌细胞亚型区分有一定的帮助。但是，如何灵敏、准确地从少量外泌体中分析这些蛋白标志物仍然存在着困难。鉴于此，我们将质谱成像技术和信号放大技术相结合，基于质谱标签分子修饰的金纳米粒子提出了一种新型质谱成像方法用于定量分析外泌体表面蛋白标志物。

**方法和结果：**首先，我们利用一种外泌体表面高表达蛋白CD63的抗体修饰的金片捕获外泌体。随后，特定抗体修饰的质谱成像探针用于识别外泌体表面不同种蛋白标志物，形成外泌体标志物三明治夹心免疫芯片（EXBioMChip）。最后采用质谱成像技术对该芯片上的标签分子全扫描来间接实现外泌体表面蛋白标志物的定量分析。由于探针表面质量标签分子相对于蛋白质分子是大大过量的，该方法具有出很高的灵敏度，可以从50个外泌体中检测到蛋白标志物。通过采用质谱成像的方式，芯片上所有标签分子的信息都可以被采集到，因此可以实现精准定量。进一步，我们分析比较了两种乳腺癌细胞（MCF-7和MDA-MB231）表面三种蛋白标志物（CD9、CD44和EpCAM）的相对表达水平，最终实现了通过外泌体表面蛋白表达水平来区分乳腺癌细胞亚型的目的。

**结论：**结果表明该方法具有超灵敏、高准确度和简单易行的优点，它在癌症诊断、疾病标志物筛选以及细胞表型分析方面有很大的潜力。