

# 脂质体和外泌体透射电镜样品前处理及形态观察\*

郭琳娜<sup>1</sup>, 于元元<sup>2</sup>, 郑春雄<sup>3</sup>, 梁超伦<sup>1</sup>

1. 中山大学分析测试中心, 广东 广州 510275
2. 中山大学孙逸仙纪念医院, 广东 广州 510120
3. 华南师范大学化学学院, 广东 广州 510006

**摘要:** 优化脂质体及胰腺癌细胞外泌体的透射电子显微镜(TEM, transmission electron microscopy)样品前处理条件, 以提高透射电镜下的成像质量并保护样品结构完整性。针对脂质体和外泌体在TEM下成像衬度弱、结构易受损的问题, 系统探索了一系列样品前处理实验方法, 包括滤膜除尘、琼脂糖凝胶柱纯化、磷钨酸负染、真空加热干燥及提取液浓度稀释等。通过透射电镜观察, 分析了不同实验条件下脂质体及外泌体的形态特征, 并讨论了其对透射电镜成像效果的影响, 从而为得到更真实可靠、满足分析要求的透射电镜形态结构观察表征提供参考依据。结果表明, 相比常规磷钨酸负染法, 脂质体样品经滤膜除尘及凝胶柱纯化后成像效果得到提升。对于外泌体样品, 优化磷钨酸负染时间及样品浓度, 其尺寸分布均匀, 形态特征明显。

**关键词:** 脂质体; 外泌体; 透射电子显微镜; 形态特征; 前处理方法

**中图分类号:** Q54 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-0137(2025)04-0062-07

## Liposome and exosome pre-treatment for transmission electron microscopy and morphological observation

GUO Linna<sup>1</sup>, YU Yuanyuan<sup>2</sup>, ZHENG Chunxiong<sup>3</sup>, LIANG Chaolun<sup>1</sup>

1. Instrumental Analysis & Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China
2. Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China
3. School of Chemistry, South China Normal University, Guangzhou 510006, China

**Abstract:** This study aims at optimizing the pre-treatment method for liposome and exosome derived from pancreatic cancer cells in transmission electron microscopy (TEM) to enhance imaging quality and preserve sample structural integrity. To overcome the challenges of poor contrast and structural vulnerability during TEM imaging for liposomes and exosomes, a thorough investigation of various pre-treatment methods was conducted, including filter membrane dust removal, agarose gel column purification, phosphotungstic acid (PTA) negative staining, vacuum heating drying, and extraction solution dilution. The morphological characteristics of liposomes and exosomes under these pre-treatment conditions were analyzed. Each of these pre-treatment methods was evaluated for its impact on the quality of TEM imaging and the preservation of the samples' structural integrity. The results offer an insight for achieving more authentic and reliable TEM morphological characterizations,

\* 收稿日期: 2024-12-13 录用日期: 2025-02-24 网络首发日期: 2025-03-24

基金项目: 国家自然科学基金(22075330)

作者简介: 郭琳娜(1987年生), 女; 研究方向: 纳米材料电子显微结构表征及分析;

E-mail: guoln5@mail.sysu.edu.cn

通信作者: 梁超伦(1981年生), 男; 研究方向: 纳米材料电子显微结构分析;

E-mail: liangchl@mail.sysu.edu.cn

全文阅读



ZR20240350

ensuring compliance with rigorous analytical standards. The results showed that, compared to the conventional PTA negative staining method, the imaging quality of liposome samples was improved after filter membrane dust removal and gel column purification. For exosome samples, optimizing PTA negative staining time and sample concentration could result in uniform distribution and distinct morphological features.

**Key words:** liposome; exosome; TEM; morphological character; sample pre-treatment method

英国科学家 Bangham Alec 在 1965 年首次提出了脂质体的概念, 为脂质体的研究奠定了坚实的基础 (Deamer, 2010)。脂质体是一种由磷脂和胆固醇等成分形成的脂质双分子层封闭囊泡结构, 其形态通常为球形或椭圆形, 直径多在 10~200 nm 之间, 且尺寸可以根据制备条件和需求进行灵活调控, 以适应多样化的实验需求 (鲍倩倩等, 2022)。从性能上而言, 由于其与细胞膜的脂质双分子层具有高度相似的特性, 脂质体可以与细胞膜融合, 从而将囊泡包裹的载物释放到细胞内, 被视为一类高效的药物载体 (冯赫宣等, 2024)。脂质体的这一性能在疫苗研发领域得到了广泛应用, 尤其是在针对新型冠状病毒 (COVID-19) 的研究中, 各类 mRNA 疫苗纷纷采用脂质体作为递送载体, 有效地避免了核酸被降解, 提高了 mRNA 进入细胞的效率 (Fang et al., 2022)。脂质体虽然是一种有效的载体, 但本质上是外源性物质, 因此容易被单核巨噬细胞系统迅速清除, 靶向性并不理想

(Rayamajhi et al., 2019)。相比之下, 外泌体是广泛存在于组织中的天然内源性纳米颗粒, 是由真核细胞分泌的尺寸介于 30~150 nm 之间的微小囊泡, 呈杯碟状或一侧凹陷的半球形, 被双层脂质膜所包裹 (谢月娜等, 2024)。外泌体的独特膜结构以及卓越的生物相容性赋予了它们在细胞间传递物质的卓越能力, 它们能够将 RNA、蛋白质以及其他分子从宿主细胞高效地转运至受体细胞, 被称为细胞间的“闪送员” (Tenchov et al., 2022)。然而, 外泌体的载药量相对较低, 且修饰的灵活性不足, 这些缺点在很大程度上限制了其作为药物载体的进一步开发和应用 (Kimiz-Gebologlu et al., 2022)。总体而言, 外泌体与脂质体在结构上具有相似性 (图 1) (Din et al., 2017; Tienda-Vázquez et al., 2023), 它们都包含脂质双分子层且粒径相近, 因此外泌体有时也被誉为“天然的脂质体”。在生理功能上, 两者各有特点, 展现出良好的互补性。

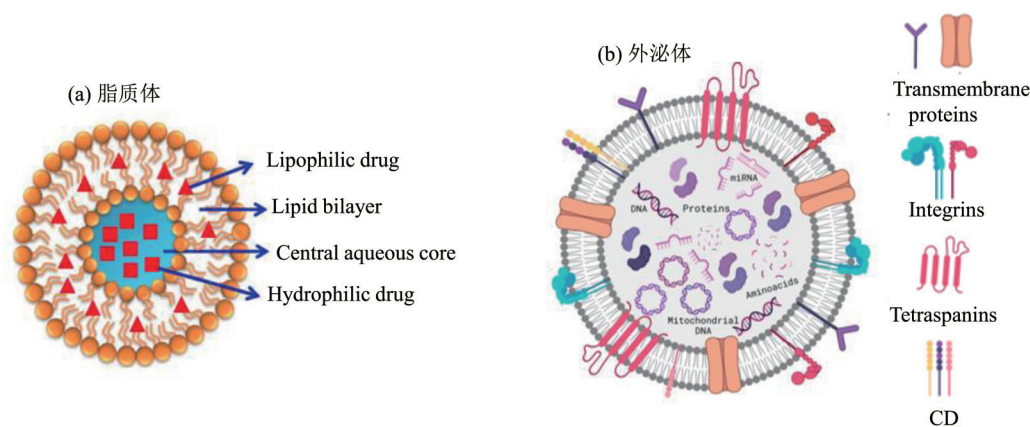


图1 脂质体和外泌体的结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of general structures of liposome and exosome

在脂质体和外泌体的应用研究中, 质量控制是一个至关重要且颇具挑战性的环节 (de A C Kodel et al., 2025)。脂质体的质量, 包括其包封率、载药率与稳定性, 很大程度上取决于其囊泡结构的均匀性和稳定性。根据 2014 年国际细胞外

囊泡协会 (ISEV) 发布的指导手册 (MISEV) (Théry et al., 2018), 用 TEM 观察样品中细胞外囊泡的形态特征是鉴定外泌体的基本方法之一。冷冻透射电镜将低温快速冷冻技术与透射电镜相结合, 揭示了样品在接近生理状态下的纳米级结构, 有效

解决了生物样品在常温条件下脱水、辐射损伤等导致的结构失真问题,在脂质体、外泌体形态及结构研究中发挥着不可估量的作用(Almgren et al., 2000)。然而,冷冻电镜不仅价格昂贵,而且其技术实现及数据收集与处理面临着诸多挑战。常规 TEM 制样及操作相对简单易行,图像解读分析直观。样品制备及前处理方法同样是常规 TEM 研究中最基础且最关键的步骤,对获取样品形态完整性以及微观结构的清晰图像起到决定性的作用。在电镜样品制备领域,有句俗语“电镜易得,制样难求”,也强调了高质量样品获得的重要性。同时外泌体和脂质体样品都由原子序数低且电子密度低的元素碳(C)、氢(H)和氧(O)构成,导致透过样品与背景的电子束差异较小,成像衬度较弱,及样品定位困难等问题。故在本工作中,选择电压较低(80 kV)且具有高衬度透镜的常规 TEM 进行样品表征,实现低损伤、大视野及高对比度观察的目的。

另外,虽然脂质体和外泌体都具有磷脂双分子层膜,但两者 TEM 样品前处理方法不尽相同。通常情况下提取出来的外泌体浓度都较低,倘若采用滤膜除尘和凝胶柱纯化等方法会造成外泌体损失,导致外泌体的浓度更低,那么在 TEM 下很难被观察到。为了进一步增强样品与背景之间的对比度,通常采用重金属负染的实验方法(Baxa et al., 2020)。负染色剂主要包括醋酸双氧铀、磷钨酸及钨酸铵溶液(Friedrich et al., 2010; 仲为等, 2017; D'souza et al., 2023)。醋酸铀是一种典型的负染色剂,但其价格昂贵、见光易分解和具有强的放射性和腐蚀性的缺点。磷钨酸染液配制简单,室温下易于存储(Claussen et al., 2003; Minami et al., 2017),比较受研究者推崇。例如郭宇飞等(2008)通过磷钨酸负染鸭瘟病毒粒子后进行 TEM 观测,发现大多数病毒呈直径为 150 nm 左右的圆形,得到了很清晰的观察结果; Minami et al. (2017)比较了几种负染液 TEM 观察效果,发现适当的磷钨酸浓度及合适的染色时间能获得充分的染色衬度及清晰完整的形貌。相比之下,脂质体是制备合成出来的,浓度比提取的外泌体浓度大很多,故脂质体可以通过更多更具体的优化方法实现颗粒的分散和筛选,从而提高脂质体的质量。

基于上述背景,本研究以核壳结构聚乳酸纳米粒子为内核、磷脂分子为壳层制备的脂质体以

及从胰腺癌细胞中提取的外泌体为研究对象,从制样、寻样、提高透射电镜图像衬度的操作技术出发,分析探讨了样品的制备及前处理条件对形貌的影响。透射电镜制样步骤的持续优化及技术创新为脂质体和外泌体的 TEM 表征工作提供了指导性的思路,并为它们后续在药物载体或癌症标志物方面的研究奠定了基础。

## 1 实验

### 1.1 脂质体制备

脂质体配方(摩尔比):二肉豆蔻酰磷脂酰甘油(DMPG)/二油酰基-三甲基氯化铵(DOTAP)/二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇(DSPE-PEG)=75/20/5。DMPG、DOTAP 和 DSPE-PEG 分别溶解于氯仿中,配置成 1 mg/mL 的溶液备用。若遇上述脂质不能完全溶解,可以超声震荡 1~2 min 或者升温至 30 °C 维持 5 min 令其溶解。按照预设比例混合上述三者溶液后,37 °C 旋转蒸发,随后常温抽真空干燥约 30 min,最终配备得到浓度为 0.1 mg/mL 脂质体溶液。

### 1.2 脂质体悬浮液滤膜除尘及凝胶柱纯化

用 5 mL 注射器吸取上述液体,并将针头更换成 0.8  $\mu\text{m}$  的滤膜,缓慢挤出液体,这一步会除去大粒径颗粒。用巴氏滴管吸取琼脂糖凝胶 6 B,使填料柱子高度大约为 0.5~1 cm。用 3~5 mL 去离子水分 2~3 次清洗柱子,洗掉保存液。在液面接近填料时,开始加入 1~2 mL 上述脂质体溶液。舍弃前 200~300  $\mu\text{L}$  的洗脱液,后用 1.5 mL EP 管收集,每管收集 500~700  $\mu\text{L}$  为宜。随着液体流出,加入 1 mL 去离子水洗出最后的脂质体部分。

### 1.3 脂质体透射电镜样品制备及负染

通过薄膜水化法制备好新鲜的脂质体悬浮液,用移液器吸取 10  $\mu\text{L}$  至铜网上,为了避免液滴散开到铜网区域之外,将铜网放在锡箔纸而不是滤纸上。在真空干燥箱中 37 °C 烘干 6 h 后,滴加 10  $\mu\text{L}$   $w = 2.5\%$  磷钨酸溶液至铜网,室温静置染色 5 min。随后用滤纸吸走多余染色液,并于 60 °C 烘箱烘干 8 h。

### 1.4 外泌体

首先将梯度超速离心得到的外泌体分为稀释和不稀释两部分,再分别进行以下实验。将得到的外泌体用磷酸缓冲盐溶液重悬后,取 10  $\mu\text{L}$  滴加在铜网上,静置 2 min 使样品吸附在铜网的碳膜上,随后为避免样品过厚,用滤纸吸走多余液体。再向铜

网滴加 10  $\mu\text{L}$   $w = 1\%$  磷钨酸溶液负染 1 min, 使负染剂与样品充分接触, 从而实现有效染色。最后用滤纸吸去多余的染色液, 在室温下自然干燥即可。

## 2 透射电镜表征

本实验测试用到的载网是普通碳膜铜网, 透射电镜型号是 HT7800, 选择的加速电压是 80 kV。

## 3 结果与讨论

### 3.1 脂质体的负染观察

在脂质体透射电镜制样及前处理的初步探索性研究中, 首先样品不做除尘和纯化处理, 直接采用磷钨酸常规负染技术, 80  $^{\circ}\text{C}$  进行真空干燥后, 在透射电镜下观察。如图 2 所示, 不同放大倍数下的 TEM 结果表明脂质体的尺寸分布不均匀, 呈不规则球形, 囊泡结构受损, 出现收缩及破碎的特征, 核壳结构难以被有效观测。并且视野中存在团聚体和大颗粒, 这使得脂质体难以被准确定位。此外, 染色效果不均匀, 背景中的杂散物严重影响了图像的清晰度, 导致图像背景噪声增大, 灰度分布密集且对比度较低。这些因素共同作用, 使得许多细节信息难以被识别, 从而无法准确判断样本是否为脂质体。总体而言, 负染所得的“负像”未能真实反映脂质体的囊泡结构特征, 负染液遗留在囊泡表面局部凹陷处, 且载网表面有负染液残留的痕迹等, 造成 TEM 观察时产生“假象”。

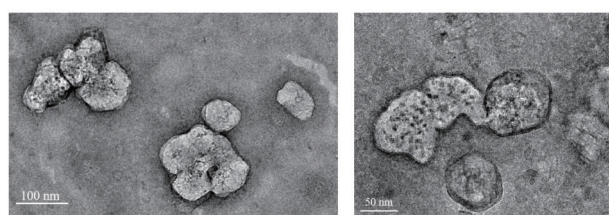


图2 磷钨酸负染及真空干燥后的脂质体不同放大倍数的透射电镜图

Fig. 2 TEM images with different magnifications of liposomes after negative staining with phosphotungstic acid and vacuum drying

### 3.2 脂质体经滤膜和纯化后观察

为了解决透射电镜成像过程中背景污染的问题, 并简化实验操作流程, 本研究采取了一种改进的制样方法。具体而言, 摒弃了传统的染色以及真空干燥步骤, 而是在对脂质体样品进行滤膜除尘处理后, 直接滴加在铜网上, 并让其自然晾干。随

后, 将晾干后的样本载入透射电镜进行测试, 如图 3 所示。所制备的脂质体轮廓分明, 易于在视野中辨识。脂质体呈比较规则的球形结构, 未发生明显形变, 背景较为清晰。这些结果表明, 简化的制样方法能够有效提高透射电镜成像的质量, 但样本中脂质体的分布仍存在一定的不均匀性。

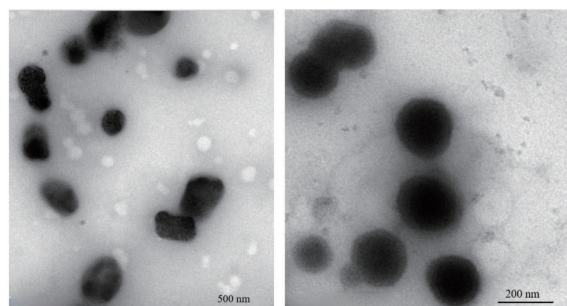


图3 滤膜除尘后的脂质体透射电镜图  
Fig. 3 TEM images of liposomes after filter membrane dust removal

为了进一步优化脂质体颗粒的分布均匀性, 本研究采用滤膜除尘和琼脂糖凝胶柱纯化联用的方法对 TEM 制样步骤进行了细致的调整。经过这些优化措施后, 所得到的 TEM 成像结果如图 4 所示。与未经滤膜除尘和琼脂糖凝胶柱纯化的脂质体相比 (Chetanachan et al., 2008), 优化后的制样方法显著提升了背景的清洁度, 脂质体的形貌呈现出规则且分散性良好的球形, 其核壳结构轮廓分明, 未发生形变, 并且易于识别和定位。这些改进不仅提高了脂质体的成像质量, 而且为脂质体的形态学研究和粒径调控提供了更为可靠的实验基础, 进而有望提升脂质体制剂的整体质量。

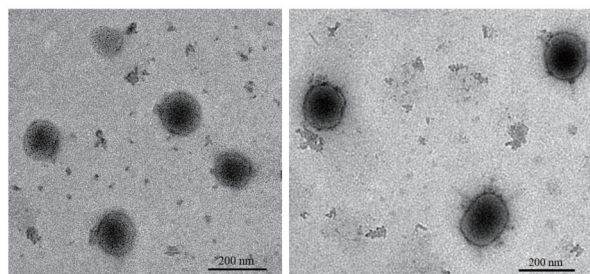


图4 滤膜除尘和琼脂糖凝胶柱纯化的脂质体透射电镜图  
Fig. 4 TEM images of liposomes after filter membrane dusting and agarose gel column purification

如图 5a 所示, 为进一步量化优化效果, 利用 Image J 软件对脂质体颗粒的粒径进行统计分析。结果表明, 琼脂糖凝胶柱纯化后的脂质体粒径控制

精度更高,分布更窄,成像质量明显改善。将优化制备得到的 DMPG 脂质体分散在水溶液后,如图 5b 所示,其粒径在 1~3 d 内基本保持不变,说明制备的脂质体能保持较为稳定的状态。

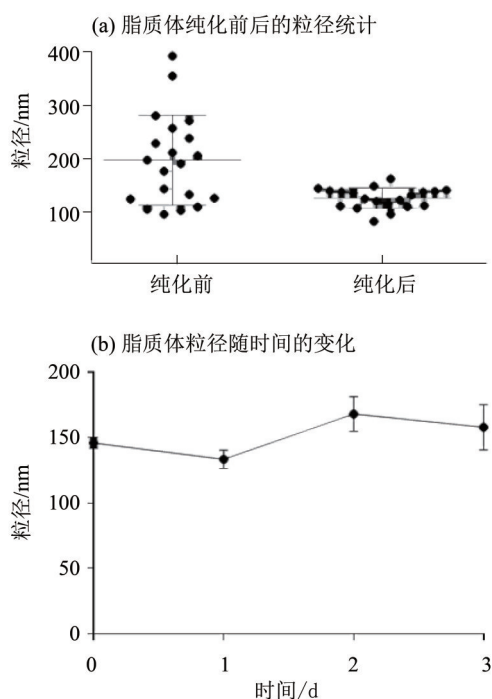


图 5 DMPG 脂质体在琼脂糖凝胶柱纯化前后的粒径统计及其粒径随时间的变化

Fig. 5 Particle size statistics of DMPG liposomes before and after purification; Time dependent changes with particle size of DMPG liposomes

同时,研究了其他类型的脂质分子 DMPC(磷酸胆碱为头基)代替 DMPG,通过相同的优化方法进行脂质体 TEM 样品前处理。如图 6 所示,也能得到粒径分布均一、球形结构清晰且背景干净的 TEM 图像。

其实在已发表的有关脂质体的文献中,多数集中在脂质体本身的合成制备以及作为药物递送载体的临床应用研究(Filipczak et al., 2020; Zheng et al., 2023),对脂质体透射电镜前处理的研究鲜有报道。然而,TEM 在脂质体的表征中不仅提供了形态和结构的直观信息,还为优化制备工艺、评估稳定性和研究药物递送机制提供了重要的技术支持。所以本文对于滤膜除尘及琼脂糖凝胶柱优化脂质体的透射电镜结果的分析研究具有一定的创新性。滤膜除尘技术在粒径控制和杂质去除方面表现出色,适用于需要高均一性和高纯度的样品;而琼脂糖凝胶法则在分子筛分和纯化效果

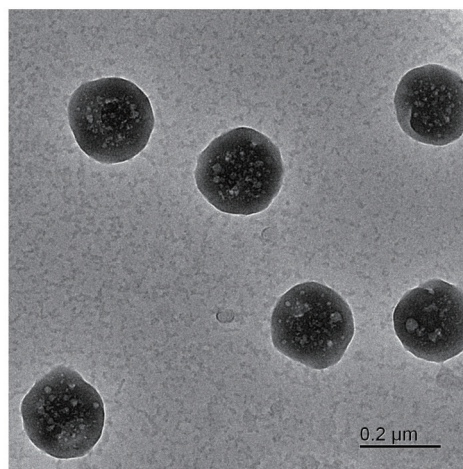


图 6 基于 DMPC 脂质体的 TEM 图像

Fig. 6 TEM images of DMPC liposomes

上具有显著优势,适用于分离不同大小的生物大分子。在实际应用中,需要根据样品的具体特性和实验需求,合理选择和组合这两种技术,以达到最佳的纯化效果。

### 3.3 外泌体负染后观察

在 TEM 分析测试外泌体形态结构的过程中,一个关键挑战在于如何实现样本颗粒的均匀分散,以确保颗粒独立存在而不发生团聚。当样本浓度过高时,颗粒倾向于团聚结块,导致分散不均匀,无法准确反映其真实形态;而当样本浓度过低时,由于外泌体本身衬度较低,其在电镜下的识别变得极为困难,这不仅耗费大量的时间和精力,而且可能影响对外泌体形态特征的准确评估。因此,确定适宜的样本浓度和制样方法是获得高质量 TEM 图像的先决条件。图 7 为稀释 5 倍后外泌体 ( $1.27 \times 10^9$  particles/mL) 悬浮液的 TEM 明场像。结果显示,在载网上难以观测到外泌体。分析原因可能在于,通过超速离心法提取的外泌体量低于使用外泌体沉淀试剂提取的量,加之胰腺癌细胞培养上清液中外泌体的自身含量较低,导致分离得到的外泌体浓度偏低,不利于 TEM 成像观察。这些发现强调了在 TEM 分析前,对外泌体样本浓度进行精确评估和优化的重要性。

图 8 展示了未经稀释的外泌体悬浮液的 TEM 图像。与稀释后的样本相比,未稀释样本中外泌体更易寻找,形态特征更为明显,易于识别。在负染色的 TEM 结果中,外泌体呈现出典型的圆盘或杯托状形态,在其边缘可观察到一圈略微明亮的亮圈,如红色箭头所示。这一现象是因为外泌体的脂质成分在电子显微镜下的电子密度相对较低,

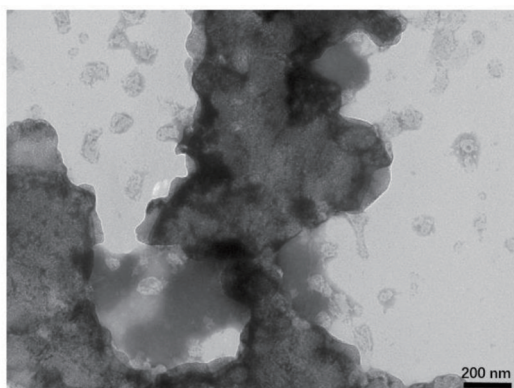
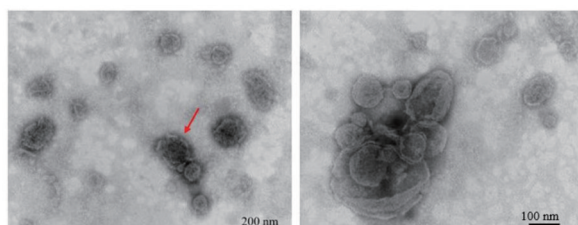


图7 稀释5倍后的胰腺癌细胞外泌体悬浮液的透射电镜图

Fig. 7 TEM image of pancreatic cancer exocrine suspension after diluted 5 times



红色箭头所指为外泌体的膜结构。

图8 未经稀释的外泌体悬液透射电镜图  
Fig. 8 TEM image of undiluted extracellular vesicle suspension

不易被重金属盐背景所掩盖。因此,透射电子能够较容易地穿透外泌体结构,使得外泌体在负染色的背景下呈现出高亮状态,而背景则相对暗淡。这种对比增强了外泌体的可视性,有助于对其形态特征进行更准确的分析和评估。

除了研究浓度是否稀释之外,还对染色时间分别为30、60以及90 s进行了探索。如图9a所示,染色时间过短(30 s),在透射电镜下很难找寻到可供观察的染色区域,外泌体颗粒的表面被染液包被,双层膜及典型的杯托或圆盘状结构模糊不可见。如图9b所示,增加染色时间至60 s,外泌体的轮廓已经清楚可见,但外泌体的胞膜边缘仍不清晰。如图9c和9d所示,再适当地增加染色时间至90 s,可观察到提取的外泌体呈表面凹陷的圆盘状囊泡结构,双层膜结构清晰锐利,背景与样品

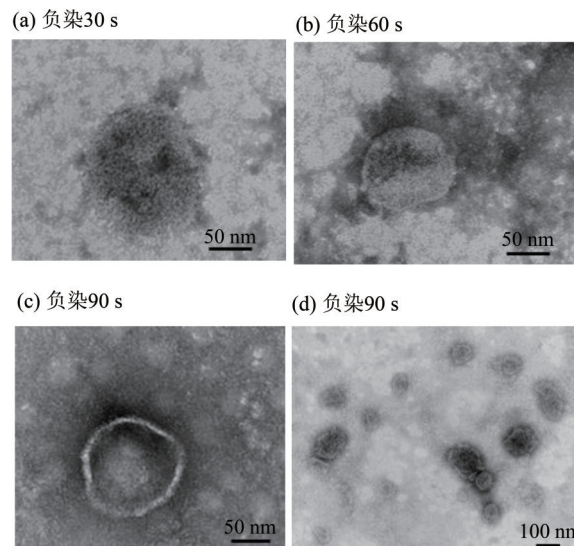


图9 不同负染时间下的透射电镜图

Fig. 9 TEM images at different negative staining times

图像反差明显,染色效果最佳。本工作中未对胰腺癌外泌体采用脂质体优化的方法,原因在于胰腺癌外泌体提取浓度通常较低,而滤膜除尘和凝胶柱纯化等步骤可能导致外泌体进一步损失,极大降低外泌体的获得率,难以在透射电镜下清晰观察,亦影响了后续实验研究。

## 4 结论

透射电镜样品制备及前处理是一项技术要求高且流程繁琐的工作,每个实验步骤都需要严格精细控制。本文细致探讨并优化了脂质体和外泌体透射电镜样品制备的条件,包括染色时间调节、样品浓度、滤膜除尘处理、纯化步骤以及是否加热干燥等关键细节,并比较了脂质体和外泌体在透射电镜下的形态特征。结果表明,经滤膜除尘及凝胶柱纯化后,未经负染的脂质体呈现出均匀分散的球形结构。外泌体悬浮液经调节浓度并负染后,可观察到明显的圆盘状形态。展望未来,需要进一步深入研究脂质体和外泌体的潜在临床应用,特别是在药物递送和疾病诊疗领域,以期发挥其更为重要的作用,为患者带来更为有效的治疗方案。

## 参考文献:

鲍倩倩,王强,桑冉,等,2022.巨噬细胞外泌体-脂质体杂化纳米粒的制备及表征[J].中中药学,20(2):

266-270.

冯赫宣,李佩珊,刘懿萱,等,2024.脂质体的研究与应用进

- 展[J]. 药学进展, 48(10): 725-734.
- 郭宇飞, 程安春, 2008. 鸭瘟病毒的纯化及电镜负染形态观察[J]. 中国兽医科学, 38(5): 393-396.
- 谢月娜, 赵倩, 李静, 等, 2024. 去白细胞单采血小板保存期外泌体形态及蛋白质组学分析[J]. 中国输血杂志, 37(10): 1101-1109.
- 仲为, 王富强, 2017. 三种常用染液对胞外囊泡的负染效果评价[J]. 中国细胞生物学学报, 39(11): 1441-1443.
- ALMGREN M, EDWARDS K, 2000. Cryo transmission electron microscopy of liposomes and related structures [J]. Colloid Surface A, 174(1/2): 3-21.
- BAXA U, 2020. Preparation of liposomes for negative staining TEM [J]. Microsc Microanal, 26(2): 2090-2091.
- CHETANACHAN P, AKARACHALANON P, WORAWIRUNWONG D, et al, 2008. Ultrastructural characterization of liposomes using transmission electron microscope[J]. Adv Mater Res, 55/56/57: 709-711.
- CLAUSSEN R C, RABATIC B M, STUPP S I, 2003. Aqueous self-assembly of unsymmetric peptide bolaamphiphiles into nanofibers with hydrophilic cores and surfaces [J]. J Am Chem Soc, 125(42): 12680-12681.
- DEAMER D W, 2010. From "Banghasomes" to liposomes: A memoir of Alec Bangham, 1921-2010 [J]. FASEB J, 24: 1308-1310.
- de A C KODEL H, ALIZADEH P, EBRAHIMI S N, et al, 2025. Liposomes and Niosomes: New trends and applications in the delivery of bioactive agents for cancer therapy [J]. Int J Pharm, 668: 124994.
- DIN F U, AMAN W, ULLAH I, et al, 2017. Effective use of nanocarriers as drug delivery systems for the treatment of selected tumors[J]. Int J Nanomed, 12: 7291-7309.
- D'SOUZA G G M, ZHANG H W, 2023. Liposomes methods and protocols, methods in molecular biology [M]. 3rd. Humana Press.
- FANG E, LIU X, LI M, et al, 2022. Advances in COVID-19 mRNA vaccine development[J]. Signal Transduct Target Ther, 7(94): 1-30.
- FILIPCZAK N, PAN J Y, 2020. Recent advancements in liposome technology[J]. Adv Drug Deliv Rev, 156: 4-22.
- FRIEDRICH H, FREDERIK P M, de WITH G, et al, 2010. Imaging of self-assembled structures: Interpretation of TEM and cryo-TEM images[J]. Angew Chem Int Ed, 49(43): 7850-7858.
- KIMIZ-GEBOLOGLU I, ONCEL S S, 2022. Exosomes: Large-scale production, isolation, drug loading efficiency, and biodistribution and uptake [J]. J Control Release, 347: 533-543.
- MINAMI M, TAKASE H, 2017. Comparative investigation of alternative negative staining reagents in bacterial morphological study[J]. J Biosci Med, 5(10): 17-24.
- RAYAMAJHI S, NGUYEN T D T, MARASINI R, et al, 2019. Macrophage-derived exosome-mimetic hybrid vesicles for tumor targeted drug delivery [J]. Acta Biomater, 94: 482-494.
- TENCHOV R, SASSO J M, WANG X, et al, 2022. Exosomes—Nature's lipid nanoparticles, a rising star in drug delivery and diagnostics [J]. ACS Nano, 16(11): 17802-17846.
- TIENDA-VÁZQUEZ M A, HANEL J M, MÁRQUEZ-ARTEAGA E M, et al, 2023. Exosomes: A promising strategy for repair, regeneration and treatment of skin disorders[J]. Cells, 12(12): 1625.
- THÉRY C, WITWER K W, AIKAWA E, et al, 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 [J]. J Extracell Vesicles, 7(1): 1535750.
- ZHENG C, ZHONG Q, YI K, et al, 2023. Anti-phagocytosis-blocking repolarization-resistant membrane-fusogenic liposome (ARMFUL) for adoptive cell immunotherapy [J]. Sci Adv, 9(32): eadh2413.

(责任编辑 张冰)