

水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-600, 红色)

Water-soluble Fluorescent Dye for Exosome Labeling (Aco-600, red)

产品编号	产品名称	包装规格
NW3230	水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-600, 红色)	25T

产品简介:

Acoerela 的 Aco-600 属于水溶性、跨膜的共轭寡电解质 (COEs)。这类亲脂性染料具备独特性能,能够完全嵌入目标膜的脂质双层,从根源上最大程度减少染料从目标中“泄漏”的情况发生。

在荧光特性方面, Aco-600 只有在与目标膜结合时,才会呈现出显著的荧光增强效果。同时, Aco-600 具有极高的水溶性,溶解在水性缓冲液时,既不会形成胶束,也不会产生纳米颗粒。这一特性使其在纳米流式分析以及细胞摄取实验中,能够有效规避假阳性结果的出现,确保实验数据的准确性与可靠性。

产品参数:

溶剂: 水性缓冲液 (PBS 或 Opti-MEM)

推荐激光器: 488nm 或 561nm

荧光信号峰: 600nm

保存条件:

2-8°C避光保存, 1 年有效。

产品组成：

名称	规格
Aco-600 染料	25 T
100 KDa 超滤管	5 T

产品使用：**一、染料工作液制备**

1. 取染料管，加入 25 μ L 水性缓冲液（推荐使用 PBS 或 Opti-MEM 溶解），配置成浓度为 25 μ M 的储存液；
2. 使用涡旋振荡器充分振荡 1min 至染料完全溶解；
3. 40 $^{\circ}$ C 水浴 15min（如有超声设备，可同步开启超声辅助溶解）；
4. 取洁净 EP 管，对储存液进行分装；
5. 取适量储存液，用缓冲液稀释至 10 μ M 的工作浓度。

二、外泌体染色

1. 将纯化的细胞外囊泡(EVs)浓度调整至 10¹¹ Particles/mL；
2. 按表 1 构建染色孵育体系：表 1. Aco-600 标记外泌体（EV）的样本制备-10 μ L 体系
3. 加入染料工作液后，盖紧离心管盖，用枪头轻柔吹吸混匀，放置于 37 $^{\circ}$ C 环境，避光孵育 2 小时。

三、去除游离染料

1. 染色完成后，在样品中加入 2 倍体积的 PBS，使用 100 KDa 超滤管*，以 3000 \times g 的离心力离心 5~10min，进行超滤置换，去除溶液中游离的染料，将上室样品浓缩至原体积；
2. 重复上述超滤置换步骤 2 次；

***注：**完成本次实验后，请丢弃超滤管，切勿留作下次实验重复使用。

3. 收集超滤管上室的样本，即为染色后的外泌体；
4. 染色后的外泌体建议尽快使用，若在 2 周内使用，可置于 4 $^{\circ}$ C 环境中避光保存；如需长

期保存，可置于-80℃冷冻保存，保存时间过长可能影响下游实验效果。

四、细胞摄取

1. 提前 24 小时铺种目标细胞；
2. 用不含外泌体的细胞培养基将染色样本稀释 5~10 倍，使染色 EV 浓度调整为约 $5E+09$ Particles/mL（超滤后外泌体得率约为 20%）；
3. 吸除待处理细胞原有的培养基；
4. 加入含染色 EV 的新鲜培养基，在细胞培养箱避光孵育 24 小时；
5. 孵育 24 小时后，弃去含有染料的孵育液，用 PBS 清洗细胞 3 次；
6. 根据实验需求选择成像观察方式，可直接进行活体成像，也可固定细胞后成像观察；
7. 若选择固定细胞后成像，使用细胞固定剂在室温下固定 15 min（固定后观察细胞形态是否发生变化，部分固定液渗透压不稳定，可能导致细胞变形）；
8. 弃去固定剂，用 PBS 清洗细胞 3 次，每次 5min；
9. 使用含 DAPI 的封片剂进行封片（或先用 DAPI 进行核染 10 min，PBS 清洗 3 次，每次 5min，之后进行封片）；
10. 共聚焦成像：Aco-600 的荧光信号收集可以使用 488、514、543、559 或 561nm 的激光器，发射波长从 600 nm 开始收集，常用的通道名称是 RFP；
11. 在成像时顺序扫描，避免同时扫描。先收集 Aco-600 的荧光信号，再收集 DAPI 信号（DAPI 的激发器也会激发 Aco-600）。

注意事项：

1. 荧光染料均存在淬灭问题，请注意全程避光，以减缓荧光淬灭；
2. 染料工作液应现配现用，不能提前配制，否则将影响染色效果；
3. Aco-600 染色固定细胞时，样品宜使用 4%多聚甲醛进行固定，使用其它不适当的固定液会导致荧光背景较高；
4. **关于外泌体染色后去除游离染料：**外泌体染色步骤中去除游离染料的步骤必不可少，以

避免游离染料对后期实验的干扰。为保证超滤后有足够的外泌体回收量，建议用于染料标记的外泌体原始浓度达到 10^{11} Particles/mL。

5. **染料标记外泌体与细胞共孵育条件：**染料标记外泌体与细胞共孵育的培养条件尽可能使用无血清培养基，以提高细胞对染料标记外泌体的摄取效率，共孵育参考时长为 24 小时。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其他用途！

相关产品：

产品编号	产品名称	包装规格
<u>NW3201</u>	<u>外泌体荧光染料 (DiR)</u>	200 μ L (1mM)
<u>NW3216</u>	<u>外泌体红色荧光标记染料 (PKH26)</u>	20 μ L (1mM)
<u>NW3217</u>	<u>外泌体绿色荧光标记染料 (PKH67)</u>	20 μ L (1mM)
<u>NW3230</u>	<u>水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-600, 红色)</u>	25T