

水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-520, 绿色) Water-soluble Fluorescent Dye (Aco-520, green)

产品编号	产品名称	包装规格
NW3232	水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-520, 绿色)	25T

产品简介:

Acoerela 的 Aco-520 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-520 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-520 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: 488 nm (蓝光)

发射峰范围: 511–530 nm

常用检测通道: FITC / GFP

保存条件:

2-8°C避光保存, 2 年有效。

产品组成:

名称	规格
Aco-520 染料	25 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-520 标记外泌体 (EV) 的样本制备 50 μ L 体系

样品	染料终浓度 μ M	10 μ M 工作液体积 μ L	PBS 体积 μ L	10 ¹¹ /mL EV 体积 μ L
EV+Aco-520	1	5	—	45
仅 EV	—	—	5	45
仅染料	1	5	45	—

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 $^{\circ}$ C 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-520 的荧光信号可使用 488 nm 激光器激发,发射波长从 511–530 nm 收集，常用通道为 FITC / GFP。
11. 在成像时建议顺序扫描，避免同时扫描。可先收集 Aco-520 信号，再收集其他通道信号 (如 DAPI、RFP)，避免光谱串扰。

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-520 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. **Aco-520 能否与 FITC 标记的抗体共染？** 不建议同时使用。Aco-520 的发射光谱

(511–530 nm) 与 FITC (~520 nm) 高度重叠，两者会在同一检测通道出现，无法区分信号来源。如需进行多色标记，建议选择光谱不重叠的抗体偶联染料，例如 PE (~580 nm)、APC (~660 nm) 或 Alexa Fluor 647 等，与 Aco-520 搭配使用，可实现多通道同时检测。

7. **Aco-520 能否与 DAPI 共染?** 可以。Aco-520 激发为 488 nm, DAPI 激发为 405 nm, 两者激发光不同，发射光谱分离良好，可同时使用，无需特殊补偿。
8. **染色后 EVs 能保存多久?** 短期 (1–2 周): 4°C 避光保存。长期: -80°C 保存 (但可能影响 EVs 完整性，建议尽快使用)。
9. 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它用途!

相关产品:

产品编号	产品名称	包装规格
NW3201	外泌体荧光染料 (DiR)	200µL (1mM)
NW3216	外泌体红色荧光标记染料 (PKH26)	20µL (1mM)
NW3217	外泌体绿色荧光标记染料 (PKH67)	20µL (1mM)
NW3230	水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-600, 红色)	25T
NW3231	水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-490, 青色)	25T
NW3232	水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-520, 绿色)	25T
NW3233	水溶性外泌体荧光标记染料 (Aco-800, 近红外)	25T