FluoExo®外泌体示踪染色试剂盒-红色

Cat# FE-02-01　　规格：1T

一、详情

外泌体示踪实验是一种用于追踪外泌体在生物体内或体外环境中的行为、分布和命运的实验技术，是外泌体功能机制研究以及工程化外泌体研究的必备实验。

FluoExo®外泌体示踪染色试剂盒，包含了示踪所需的荧光染料、缓冲液和袖珍柱，能够帮助用户快速、高效、高质量地完成外泌体荧光标记实验。

生物组织在红光和近红外区域的自发荧光较弱，因此红色或近红外染料更适合外泌体的体内示踪实验。本试剂盒中的荧光染料为带有长脂肪族尾巴的亲脂性荧光染料，可以稳定地整合到外泌体膜脂质区并发出红色荧光，兔红细胞中标记的本染料半衰期大于 100 天，具有强稳定性，有利于长期体内追踪研究。此外，也可用本试剂盒标记外泌体进行体外示踪。

本试剂盒中稀释缓冲液是对哺乳动物细胞具有等渗性，不含洗涤剂或有机溶剂，旨在于染料标记步骤中维持外泌体活性，同时最大程度地提高染料的溶解度和染色效率。

袖珍柱用于以快速、有效去除外泌体标记过程的游离荧光，获得纯化的荧光标记外泌体，即可进行外泌体示踪研究。

二、用途

帮助用户快速、高效、高质量地完成外泌体荧光标记实验，并高效去除游离荧光染料，以便于进行体内和体外外泌体示踪实验。

三、自备材料

1）2ml 棕色避光管，或锡箔纸包裹的普通 EP 管；

2）低速离心机、旋转混匀仪。

四、组分

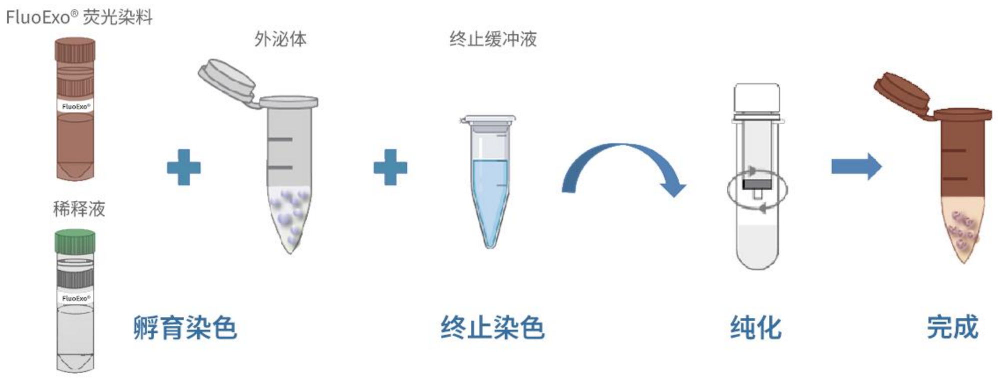
组分	规格	保存条件	运输条件
红色荧光染料 Red Fluorescence Dye	100µM/5µl/1 支	2~8°C，避光	冰袋运输
稀释缓冲液 Diluent Buffer	150µl	2~8°C	
终止缓冲液 Stop Buffer	250µl	2~8°C	
袖珍柱 Re-purification Pocket Column	1 套(含柱子、外管、下盖各 1 个)	柱子直立存放，常温	
清洗液 Wash Buffer	5ml/1 瓶	常温	

注：荧光波长：λex 550 nm；λem 566 nm。

五、注意事项

内容	说明
使用建议	荧光染料易水解，建议分装保存，分装后用封口膜密封保存。
保存时间	一年
注意事项	1. 避免反复冻融。请勿使用含叠氮化物的溶液。 2. 建议在超净台操作，避免反复开盖滋生细菌 。 3. 染色工作液现配现用，以免影响标记效果。 4. 荧光标记的外泌体如进行细胞实验，如担心操作过程中细菌污染，建议过 0.22 µm 滤膜除菌或培养基中添加 1%双抗。

六、操作步骤



1. **外泌体准备**：通过尺寸排阻色谱 SEC/超离 UC/SEC+UC 等方式分离纯化外泌体，或直接从恩泽康泰购买纯化好的高纯度外泌体货架产品（货号 CTE-06/CTE-05/CTE-052）。外泌体浓度建议高于 1E+11 particles/ml 或 0.5-1 µg/µl，溶于 1× PBS 中，体积 ≤ 100µl。

2. **染色工作液准备**：用 25 倍体积稀释缓冲液将荧光染料稀释到与外泌体一致的体积。例如外泌体体积为 100µl，则向 96µl 稀释缓冲液加入 4µl 荧光染料混匀，制备 100µl 染色工作液。（染色工作液需现用现配，注意避光）

3. **荧光标记**：将上述外泌体溶液和染色工作液等体积混匀，**37℃ 200rpm** 避光**摇动**孵育 10 分钟。而后，加入 2 倍外泌体体积的终止缓冲液（如外泌体体积为 100µl，则加入 200µl 终止缓冲液），37℃ 200rpm 避光**摇动**孵育 1min，以终止染色。

4. **柚珍柱预处理**：取 1 支柚珍柱，拧断柱子尾部。将柱子放回离心柱外管中，500×g 离心 30s 去除储存液，弃去外管中的废液。洗柱：取下顶部螺旋盖子，向柱子中加入 600 µl 清洗液，500×g 离心 30s 清洗柱子，弃去外管中的废液。重复前述洗柱步骤两次。

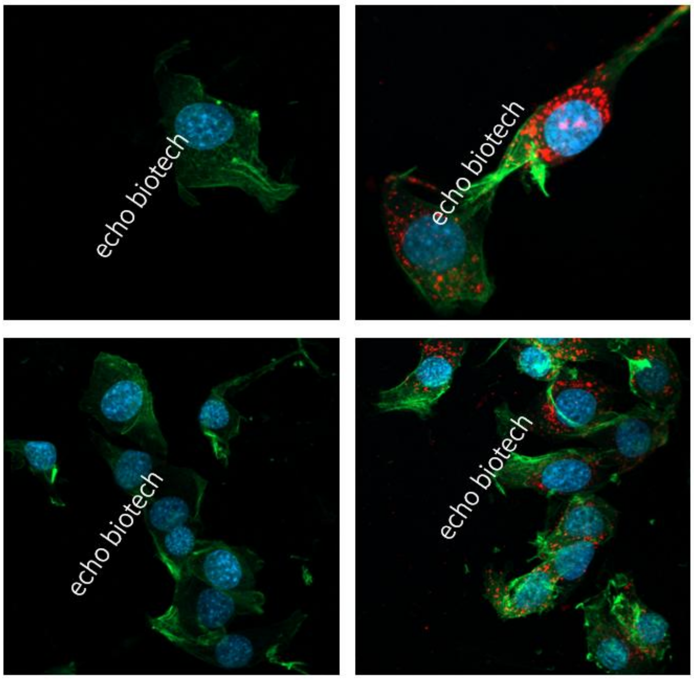
5. **纯化外泌体**：将柱子置于一个收集管（EP 管）中，盖上柱子下盖后，将样品全部加入，盖上顶部螺旋盖子拧紧；将柱子放置在旋转混匀仪上，室温下 80rpm 混合 30 min。取下下盖将柱子放入新的 2ml EP 管中，500×g 离心 30

秒，收集流出液（如初始加入 100μl 外泌体，则终体积约 400 μl），该流出液即为荧光标记的外泌体终产物。（终产物使用前请注意避光保存）

七、实验数据

按照上述操作对货架 293F 外泌体 CTE-06 进行红色荧光标记，加入受体细胞中孵育 24h（建议荧光标记外泌体颗粒数与接种细胞比例大于 5000：1），受体细胞的细胞膜和细胞核分别用绿色细胞膜染色剂和 Hoechst 标记，激光共聚焦显微镜扫描结果表明：标记的外泌体 (红色) 被受体细胞摄取。

无EV对照组　　FluoExo®红色荧光标记EV处理组



八、FAQ

1、 制备好的荧光标记外泌体终产物可以保存多久?

建议尽快使用，4°C保存不超过 48h。

2、 可以不去除游离染料吗?

建议按照上述步骤进行去除，以避免游离染料对后期实验的干扰和假阳性结果。

3、 染料标记、纯化会导致外泌体损失吗?

会损失，一般回收率约 30%-50%以上，浓度越低损失越大。因此建议至少取 2 倍于细胞共孵育实验所需外泌体剂量进行染料标记实验。

4、 体外示踪实验，细胞培养时使用正常胎牛血清还是无外泌体血清?

建议使用无外泌体血清（恩泽康泰货号 EDFBS50），以提升细胞对染料标记外泌体的摄取效率。

该产品仅供科研使用。在使用本产品时遇到任何问题，欢迎邮件/电话咨询。