

## じっけんレシピ

PKH67 キット 製品番号 [PKH67GL](#)ミニキット 製品番号 [MINI67](#)希釈液C 製品番号 [CGLDIL](#)

## Green Fluorescent Cell Linker Kit (製品番号 PKH67GL, MINI67)

## 簡易プロトコール (本簡易プロトコールは、英語データシートをご参照の上、ご利用下さい)

## 細胞懸濁液の調整

細胞懸濁液 ( $2 \times 10^7$  細胞)

軽く遠心、血清を含まない培地で1回洗浄

400 x g で5分間遠心した後、細胞ペレットに25  $\mu$ L 以上の上清が残らないように上清を吸引。細胞ペレットに1 mL の Diluent C を加えて混合(ボルテックスは不可)。すぐに染色へ

## 2x 染色液の調整

(染色直前に用時調整)

最終濃度  $2 \times 10^{-6}$  M で染色する場合:4  $\mu$ L の PKH67 (P7333) を1 mL の Diluent C に添加して  $4 \times 10^{-6}$  M の色素溶液を2x 染色液とする

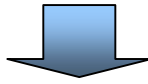
## 染色反応

細胞懸濁液 1 mL と2x染色液 1 mL をピペッティングで迅速に混合し、25 °C で2~5分間インキュベーション※ ※時々チューブを反転して混合



## 反応停止

等量(この例では2 mL)の血清またはタンパク質溶液(1% BSA など)を反応液に添加  
1分間インキュベーション



### 洗浄

400 x g、25 °Cで 10 分間遠心後、上清除去



10 mL の培地(血清含む)を添加  
新しいチューブに移す



400 x g、25 °Cで 5 分間遠心後、上清除去

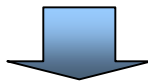


10 mL の培地(血清含む)を添加  
2 回以上行う



### 濃度決定、再懸濁

培地(血清含む) 10 ml で懸濁して細胞密度を決定。



### 観察

2%パラホルムアルデヒドで固定  
(アセトンは色素が流出するため不適)

励起波長 : 490nm

測定波長 : 502nm (緑色)