

## じっけんレシピ

〒140-0002 東京都品川区東品川 2-2-24 天王洲セントラルタワー4F  
Tel: (03) 5796-7330 Fax: (03) 5796-7335 e-mail: [sialjpts@sial.com](mailto:sialjpts@sial.com)

PKH26 キット 製品番号 [PKH26GL](#)ミニキット 製品番号 [MINI26](#)希釈液C 製品番号 [CGLDIL](#)

## Red Fluorescent Cell Linker Kit (製品番号 PKH26GL, MINI26)

## 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  $\times$  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 PKH26 (No. P9691) 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 をピペットで迅速に混合し、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

### 希釈

等量(この例では 4 mL)の完全培地を添加して

希釈 (Diluent C は使用しない)



### 洗浄

400 × 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 × 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

完全培地 10 ml で懸濁して細胞密度を決定。

希望の細胞密度に調整する。



### 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 : 551nm

測定波長 : 567nm (赤色)