

产品组成:

规格	100T
PKH26 试剂	250u1

储存条件:

-20℃ 避光保存。避免反复冻融。

有效期:

6 个月。

注意事项:

1. 荧光染色剂为 DMSO 溶液，冬季气温较低时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热融解，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
2. 可以用手捂住使其融解或 37℃ 短时间水浴。吸头也需要放在培养箱预热，否者容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。
3. 试剂拆封后请尽快使用完！
4. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果。
5. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
6. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
7. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
8. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
9. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

产品简介:

荧光染料 PKH26 是一种可对活细胞进行荧光标记的新型染料，可以标记活体细胞，通过与膜结构的脂质分子结合而标记细胞。对细胞毒性较小，荧光背景低，脂溶性高，能够轻易穿透细胞膜，有着强而稳定的红色荧光。经 PKH26 标记的细胞可用于体外和体内增殖研究，且具有不会使邻近细胞染色的功能。

在细胞分裂增殖过程中，PKH26 的荧光强度会随着细胞的分裂而逐级递减，标记荧光可平均分配至两个子代细胞中，因此其荧光强度是亲代细胞的一半，根据这一特性，它可被用于检测细胞增殖，细胞周期的估算及细胞分裂等方面。PKH26 标记细胞的荧光非常均一，并且分裂后的子代细胞的荧光分配也更均一。在细胞分裂增殖过程中，PKH26 标记荧光可平均分配至两个子代细胞中，荧光强度变为亲代细胞的一半，通过流式细胞仪根据荧光强度的不同，可检测出未分裂细胞，分裂一次（1/2 的荧光强度），二次（1/4 的荧光强度），三次（1/8 的荧光强度），以及更多分裂次数的细胞。PKH26 可检测分裂次数多达六次甚至更多。

除了用于细胞增殖检测，PKH26 还可以用于细胞的体外盒体内示踪，标记后荧光在胞内表达稳定，阳性标记率达 98% 以上，标记细胞形态良好，能有效地观察细胞在体外的诱导分化情况；或将标记的细胞注入体内，可以有效

的显示移植细胞在活体组织中的迁移及分化。PKH26 标记的细胞用于体内观察可以长达数周之久，它常被用来做活体细胞检测实验和用荧光显微镜观察细胞长期活动的实验。PKH26 毒性较小，不影响细胞的增殖能力。此方法操作简单，且不用放射性同位素，不存在安全隐患。可以更快速，更准确和更安全地得到想要的实验数据。

PKH26 标记细胞后通常用流式细胞仪进行细胞增殖检测。

PKH26 标记细胞呈橙红色荧光，荧光波长： $\lambda_{ex}=551\text{ nm}$ ， $\lambda_{em}=567\text{ nm}$ 。

试剂盒以外自备试剂和仪器

荧光显微镜/激光共聚焦 离心机 移液器 冰箱 冰盒 CO2 培养箱

PBS 缓冲液 HBSS

离心管 吸头 一次性手套

使用方法：

1. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体甩至管底，避免开盖时液体洒落。
2. 染色浓度根据细胞种类的不同和每孔内细胞数量的多少而异。
3. 配制的 PKH26 母液极易水解，建议分装保存，分装后用封口膜密封管口，再用锡箔纸包裹，最好和干燥剂一起用塑料袋密封， $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。
4. PKH26 工作液应现配现用，不能提前配制，因为 PKH26 吸水会分解，影响染色效果。
5. PKH26 易被水解，在水溶液中会很快变质。母液请在使用过程中避免接触水。工作液在标记细胞的过程中和水接触是在许可的时间范围内的。
6. PKH26 溶解液在 4°C 、冰浴等较低温度情况下会凝固而粘在离心管管底、管壁或管盖内，可以 37°C 水浴片刻至全部融解后使用。
7. 不同的细胞种类标记后可以示踪的代次或时间差异较大，请根据实际情况或参考文献进行检测。

细胞染色

1. 试剂配制：

从冰箱中取出 PKH26 试剂，静置几分钟至室温，或者 37°C 水浴片刻后，离心盛放 PKH26 的管子，开盖前请务必离心几分钟让试剂充分落入管底后才能开盖。

2. 根据需要检测的细胞样品数，用合适的溶液（如：无血清培养基，HBSS 或 PBS）将 PKH26 母液 250-500倍稀释，配制成染色工作液。

3. 将制备好的待测细胞用 100-200ul 染色工作液重悬，至细胞浓度大约 $10^7/\text{ml}$ 。

4. 将染色液和细胞在 37°C 培养箱中孵育 5-15 分钟。

5. 在 $2-8^{\circ}\text{C}$ 条件孵育 15-30 分钟。

6. 离心后去上清，收集细胞，用 PBS/HBSS 或无血清培养基洗涤细胞 1-2 次，最后加入 PBS 或无血清培养基重悬细胞。

7. 根据自己实验需要处理细胞。

8. 取 500ul 细胞悬液，用流式细胞仪检测。Ex/Em=551/567nm。

9. 随后还可按照细胞的正常培养方法进行培养。

可以在荧光显微镜下直接观察标记效果，也可以在培养适当时间后再用流式细胞仪检测细胞增殖，或用于其他特定实验目的的细胞荧光示踪。