

外泌体绿色荧光标记染料 (PKH67) Exosome Green Fluorescent labeling dye (PKH67)

产品编号	产品名称	包装规格
NW3217	外泌体绿色荧光标记染料 (PKH67)	20 μ L (1mM)

产品简介:

荧光染料 PKH67 是一种可对体外和体内细胞示踪的绿色荧光染料, 通过与膜结构的脂质分子结合到细胞膜脂质区域上。PKH67 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, 有着强而稳定的绿色荧光。该试剂可以在染色过程中增加染色效率, 同时维持细胞活力。可用于外泌体的标记染色实验, 监测细胞吞噬作用。

产品组成:

组分	名称	规格
A	PKH67 linker (for green fluorescent cell labeling)	20 μ L
B	Diluent C (for General Membrane Labeling)	200 μ L

荧光波长: λ_{ex} 490 nm; λ_{em} 502 nm

保存条件:

2-8 $^{\circ}$ C避光 (一年有效)

产品使用:

一、外泌体蛋白定量:

取适量外泌体进行 BCA 蛋白浓度测定以确定外泌体蛋白量;

二、染料工作液制备:

用 "Diluent C" 将 "PKH67 linker (for green fluorescent cell labeling)" 储存液稀释 10 倍, 配制浓度为 100 μ M 的染料工作液 (避光操作, 工作液应根据实验用量适当配制, 现配现用);

三、外泌体染色:

1. 在外泌体中加入染料工作液，建议加入剂量如下：

外泌体蛋白量	加入染料工作液剂量
10 - 200 μg	50 μL
200 - 500 μg	100 μL
500 - 1000 μg	200 μL

2. 加入染料工作液后将离心管盖紧，通过涡旋振荡器混匀 1 min，再静置孵育 10min；
3. 向孵育后的外泌体-染料复合物中加入 10 mL 的 1×PBS 混匀；
4. 按照外泌体提取方法再次提取外泌体以去除多余染料；
5. 取 200 μL 1×PBS 重悬沉淀物，沉淀即为染色后的外泌体。

注意：过度染色会导致外泌体膜完整性丧失，最佳 PKH67 染料/外泌体用量需根据自身实验而决定。

注意事项：

- 1、PKH67 母液易水解，建议分装保存，分装后用封口膜密封保存；
- 2、PKH67 工作液应现配现用，不能提前配制，否则将影响染色效果；
- 3、PKH67 溶解液在较低温度下会凝固而粘在管底内，可以 37°C 水浴片刻至全部融解后使用。

常见问题：

1. 建议用于染料标记的外泌体原始浓度达到 0.5~1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 。外泌体浓度过低实验失败风险较高。
2. 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。这一步相当于重新提取外泌体，所有外泌体提取纯化方式都适用。
3. 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 2~24 h。
4. 本染料也可用于细胞膜染色，参考剂量染料浓度为 2 μM ，细胞浓度为 1×10^7 cells/mL。
5. 由于外泌体染色效率难以达到 100%，且在去除游离染料过程中无法避免外泌体的损失，因此，建议制备 2 倍于共孵育实验所需外泌体量以进行染料标记实验。

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！