

5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷

产品信息:

产品名称: 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷

规格:

目录号	产品名称	规格
X12042	5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷	100mg
X12043	5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷	1g

产品说明:

CAS 号	59-14-3
分子式	C9H11BrN2O
分子量	307.10 g/mol
纯度	≥99%(By HPLC)
外观	白色至类白色粉末
纯化方式	Affinity-chromatography
溶解性	溶于 DMSO(20 mg/ml)、无水乙醇 (25 mg/ml) 、水 (10 mg/ml)
保存	-20°C干燥保存
运输	冰袋运输

使用说明:

产品描述:

BrdU 是一种合成的胸苷溴化类似物, 在 S 期可替代胸苷选择性插入细胞 DNA。BrdU 通常和广泛用于测定 DNA 合成和标记分裂细胞, 最后用来研究诱导细胞增殖的信号通路和其他生理过程。BrdU 通过体外细胞培养或体内注射的方式进行探针加载, 然后用抗 BrdU 的抗体进行特异性检测。

BrdU 标记后, 对组织或细胞进行固定和透化后, 需要额外的 DNA 水解步骤(有时也称 DNA 变性), 从而允许抗 BrdU 的抗体能够与插入 DNA 的 BrdU 结合。BrdU 抗体能够与其他细胞标记物如 Ki67, 双皮质素(DCX)和 NeuN 联合使用来鉴定增殖细胞和新分化神经元。

操作步骤:

BrdU 储存液的准备用 1 X DPBS 充分溶解适量的 BrdU 配置 10 mg/mL 的母液, 过滤除菌后, 按照 0.5mL/管的量分装放在-20°C 或者-80°C 长期保存, 避免反复冻融。BrdU 储存液再融化后, 4°C 可稳定存放一周。

1. 体内 BrdU 标记

1) 腹腔注射法 (常用): 无菌的 10 mg/mL (溶于 DPBS) 适合用于体内注射用。按照 100-200 μ L (1-2 mg) BrdU 的量腹腔注射到小鼠体内。注意: 最短在注射后 0.5 h 后在小肠, 胸腺和骨髓瘤处就能检测到

BrdU。而一般在注射后 24 h 内几乎所有组织都能检测到 BrdU。这个时间可能对于一些快速分化的组织如小肠来说有些久。

2) 根据自身的实验体系，在合适的时间点处死动物，摘除待研究的组织。使用冰冻切片或者石蜡包埋的方法进行组织处理和切片制备。然后进入后续的 IHC 染色步骤。

2. 体外 BrdU 标记 (培养原代细胞或者细胞系)

注：总的来说，10 μ M BrdU (稀释于培养液) 是一个比较合适的方法用来标记不同物种来源的原代细胞或细胞系。当然，建议针对具体的实验体系优化方法。

- 1) 在 96 孔板上按标准步骤进行细胞培养，培养时间一般为 1-72 h；
- 2) BrdU 工作液的准备：用组织细胞培养液按照 1:30 的比例稀释储存液得到 1mM BrdU 工作液。然后取 10 μ L 1 mM BrdU 溶液直接加入 1 mL 组织培养液即得到最终工作液。37°C 温热。
- 3) 按 100 μ L/孔 BrdU 工作液的量进行细胞标记，37°C 孵育 60 min~过夜。同时设置非 BrdU 标记的细胞作为阴性对照。注意：最佳的孵育时间取决于细胞增殖速度以及需要达到的实验目的。比如，对于快速增殖细胞 (如 HL-60) 有效孵育时间为 30-45 min；对于原代细胞 (如未受外源刺激培养的外周血淋巴细胞) 孵育时间可能需要 24 h。细胞密度最好不要超过 2×10^6 cells/mL。
- 4) 制备单细胞层玻片，使用以下任何一种方法：
 - a. 细胞离心涂片 (cytospin) 制备：使用细胞离心涂片机，将 100 μ L 标记好的细胞 (浓度为：1-2 $\times 10^6$ cells/mL) 直接离心到干净，无脂肪，poly-L-lysine 包被的玻片上，风干。
 - b. 细胞涂片 (cell-smear) 制备：取一小滴标记好的细胞悬液于干净，无脂肪，poly-L-lysine 包被玻片的一端，然后用第二个干净玻片将其均匀涂布成一薄层。室温风干。
- 5) 将玻片置于 70%冰乙醇放在 -20°C 下固定 20-30 min。
- 6) PBS 清洗细胞 3 次，每次 5 min。
- 7) 加入 1.5M HCl 中室温孵育 30 min。注意：DNA 的变性对于 BrdU 染色的成功至关重要。
- 8) 吸去 HCl，PBS 清洗 2 次，每次 5 min。
- 9) 进入后续 ICC 染色步骤。

3. 体外 BrdU 标记 (组织薄片)

- 1) BrdU 工作液的准备：用组织细胞培养液按照 1:30 的比例稀释储存液得到 1 mM BrdU 工作液。然后取 10-20 μ L 1 mM BrdU 溶液直接加入 1 mL 组织培养液即得到最终工作液。确保有足够的工作液 (37°C 温热) 完全浸泡组织。
- 2) 用手术刀或者锋利的刀片将组织切割成约 1 mm 厚，2 mm² 大小的薄片。建议在温热的培养基内进行切片，利于维持组织的活力。
- 3) 转移组织薄片至预装有 10 mL BrdU 标记液的 15 mL 离心管内。于 37°C，CO₂ 培养箱内孵育需要的时间。孵育时间可变，取决于组织薄片类型以及需要达到的实验目的 (常用的为 2-4 h)。直接丢弃未用完的标记液。
- 4) 37°C PBS 清洗组织薄片，每次 5 min。
- 5) 使用标准的冰冻切片或者石蜡包埋切片的方法固定组织。

注意事项：

本品对肌体有不可逆损伤的可能性。使用时应穿防护服和戴手套。应避免吸入本品的粉尘。

本产品仅供科研使用，不可用于临床诊断应用或其他用途。