

BrdU 溶液使用说明书

储存条件： -20℃保存，有效期 1 年。

产品内容：

Components	SL71xx
BrdU 溶液（0.5mg/ml，无菌）	SL7135
BrdU 溶液（10mg/ml，无菌）	SL7136
说明书	1 份

产品介绍：

BrdU，英文全称 5-bromo-2'-deoxyuridine，中文全称 5-溴-2'-脱氧尿苷，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。

使用说明：

1. BrdU 标记：体外标记细胞

制备 BrdU 储存液（10mM）：称取 3mg BrdU（Mw：307.10）溶于 1ml 去离子水，充分溶解即可。

用细胞培养基按照 1:1000 的比例将储存液稀释到 10 μ M BrdU 染色液，并在无菌条件下用 0.2 μ m 滤膜对染色液进行过滤除菌。

吸掉细胞内培养基并更换无菌的 10 μ MBrdU 染色液，置于 CO₂ 培养箱 37° C 孵育 1-24h。【注意】：BrdU 孵育时间取决于细胞分裂速度。原代细胞可能要高达 24h，但快速增值细胞系可能仅需 1h。达到最佳信噪比的时间需要通过优化条件来确定。

吸掉细胞内染色液，用 PBS 清洗 2 次，每次至少 5s。

根据标准免疫细胞化学（ICC）操作流程进行细胞固定和透化。但是在开始免疫染色前需参照下述的 DNA 水解步骤。

2. BrdU 标记：BrdU 体内标记

【注意】：BrdU 体内标记方法比较多，常见的有腹腔注射法（Intraperitoneal injection）和口服法。以下为腹腔注射法的步骤，其他方法可参考文献或根据实验室固有经验操作。

用 1×PBS 溶解适量的 BrdU 配制成 10mg/ml 储存液，过滤除菌，按照单次用量分装冻存后待用，避免反复冻融。

对于小鼠，通用情况注射浓度为 100mg/kg。

BrdU 标记完成后，根据实验室已成的步骤处理动物。【注意】：BrdU 插入快速分化组织比如小肠，在注射后 30min 就能检测到。但大多数组织可能需要高达 24h 才能检测到。合适的处理时间和注射剂量需根据组织类型来优化。

3. DNA 水解（DNA 变性步骤）

3.1 细胞样本

用 1-2.5M HCl 室温孵育细胞 10min-1h，实际的 HCl 浓度和孵育时间根据实验来优化。如果使用更短的孵育时间，37° C 孵育可能比室温孵育效果更好

可选步骤：去除 HCl，用 0.1M 硼酸钠缓冲液，pH 8.5 室温中和 30min。【注意】：0.1M 硼酸钠缓冲液（pH 8.5）配置方法：称取 3.8g 硼酸钠（Mw=381.4）加入 100ml 蒸馏水，充分溶解后，用 NaOH 调整到所需 pH。

用 PBS 清洗 3 次，每次不少于 5s。

根据标准 ICC 操作流程继续后续染色。

3.2 组织切片

【注意】：对于石蜡切片必须先做脱蜡处理再进行 DNA 水解步骤。

用 1-2 M HCl 室温孵育切片 30min-1h，实际的 HCl 浓度和孵育时间根据实验来优化。如果使用更短的孵育时间，37° C 孵育可能比室温孵育效果更好。

可选步骤：去除 HCl，用 0.1M 硼酸钠缓冲液（pH 8.5）室温中和切片 10min。【注意】：0.1M 硼酸钠缓冲液，pH 8.5 配置方法：称取 3.8g 硼酸钠（Mw=381.4）加入 100ml 蒸馏水，充分溶解后，用 NaOH 调整到所需 pH。

用 PBS 清洗 3 次，每次不少于 5s。

根据标准 IHC 操作流程继续免疫染色步骤。

注意事项：

- 1) BrdU 是一种诱变剂，操作过程一定要注意防护，不要与皮肤直接接触。另戴口罩避免粉尘吸入。
- 2) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

相关内容（与 anti-BrdU 的共染色）

目的：BrdU 常与其他抗体联合使用以鉴定增殖和新分化神经元。常见以下 3 个指标：

Ki67：反映增殖的细胞标记物，细胞周期 G1，S，G2 和 M 期有 Ki67 表达，但静止期 G0 无 Ki67 表达。

Ki67 抗体能够替代或与 Brdu 联合使用来标记增殖神经元。

双皮质素（Doublecortin, DCX）：微管相关的磷酸蛋白，由未成熟神经元表达。可与 BrdU 联合使用鉴定未成熟的有丝分裂后神经元。

NeuN：成熟神经元标记物，能与 BrdU 联合染色去鉴定新分化的神经元。