

## BrdU 溶液使用说明书

储存条件： -20°C保存，有效期 1 年。

产品内容：

Components	SL71xx
BrdU 溶液 (0.5 mg/mL, 无菌, in PBS)	SL7135
BrdU 溶液 (50 mg/mL, 无菌, in DMSO)	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 (仅供参考)：

### 1. 体外标记细胞

- 1) 制备 BrdU 储存液 (10 mM)：称取 3 mg BrdU (Mw: 307.10) 溶于 1 mL 去离子水, 充分溶解即可。
- 2) 用细胞培养基按照 1:1000 的比例将储存液稀释到 10  $\mu$ M BrdU 染色液, 并在无菌条件下用 0.2  $\mu$ m 滤膜对染色液进行过滤除菌。
- 3) 吸掉细胞内培养基并更换无菌的 10  $\mu$ M BrdU 染色液, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱 37°C 孵育 1-24 h。

**【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 24 h, 但快速增值细胞系可能仅需 1 h。达到最佳信噪比的时间需要通过优化条件来确定。

- 4) 吸掉细胞内染色液, 用 PBS 清洗 2 次, 每次至少 5 s。

- 5) 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 体内标记（本产品未经动物注射实验检测）

**【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。

- 1) 用 1×PBS 溶解适量的 BrdU 配制成 10 mg/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。
- 2) 对于小鼠，通用情况注射浓度为 100 mg/kg。
- 3) 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 30 min 就能检测到。但大多数组织可能需要高达 24 h 才能检测到。合适的处理时间和注射剂量需要根据组织类型来优化。

## 3. DNA 水解（DNA 变性步骤）

### 3.1 细胞样本

- 1) 用 1-2.5 M HCl 室温孵育细胞 10 min-1 h，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
- 2) 可选步骤：去除 HCl，用 0.1 M 硼酸钠缓冲液，pH 8.5 室温中和 30 min。**【注意】**：0.1 M 硼酸钠缓冲液（pH 8.5）配置方法：称取 3.8 g 硼酸钠（Mw=381.4）加入 100 mL 蒸馏水，充分溶解后，用 NaOH 调整到所需 pH。
- 3) 用 PBS 清洗 3 次，每次不少于 5 s。
- 4) 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。

- 1) 用 1-2 M HCl 室温孵育切片 30 min-1 h，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。
- 2) 可选步骤：去除 HCl，用 0.1 M 硼酸钠缓冲液（pH 8.5）室温中和切片 10 min。**【注意】**：0.1 M 硼酸钠缓冲液，pH 8.5 配置方法：称取 3.8 g 硼酸钠（Mw=381.4）加入 100 mL 蒸馏水，充分溶解后，用 NaOH 调整到所需 pH。
- 3) 用 PBS 清洗 3 次，每次不少于 5 s。
- 4) 根据标准 IHC 操作流程继续免疫染色步骤。



Focus on Life Sciences

COOLABER SCIENCE & TECHNOLOGY Co.,LTD

[www.coolaber.com](http://www.coolaber.com)

Phone: 400-878-6800

---

**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。