

5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)

5-溴脱氧尿嘧啶核苷

产品信息

产品名称	产品编号	规格
	40204ES60	100 mg
5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴脱氧尿嘧啶核苷	40204ES80	1 g
	40204ES90	5 g

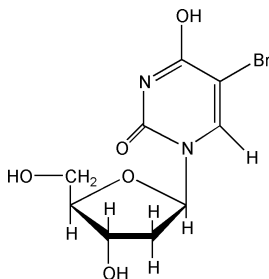
产品描述

目前常用的细胞增殖标记物有 4 种，DNA 聚合酶 α (DNA polymerase α)，增殖细胞核抗原 (Proliferating cell nuclear antigen, PCNA)，Ki-67 和 5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU)。其中 BrdU 为组织细胞非内源性表达存在，应用相对较广。BrdU，也称为溴化去氧尿苷，一种合成的胸苷类似物，在 S 期可替代胸腺嘧啶核苷选择性结合到细胞 DNA 中。从而检测细胞 DNA 合成和标记细胞分裂，凋亡等行为。在遗传研究中 BrdU 可通过活体注射或细胞培养加载，然后使用抗 BrdU 的单克隆抗体进行特异性标记，ICC 或 IHC 法染色法显示增殖细胞。另外，还能同时结合其它细胞标记物，双重染色，来判断增殖细胞的种类，增殖速度等，对研究细胞动力学有着重要意义。

产品性质

中文别名 (Chinese Synonym)	5-溴-1-(2-脱氧- β -D-呋喃核糖)尿嘧啶；5-溴脱氧尿苷；溴化去氧尿苷；
英文别名 (English Synonym)	Br-dU; BUdR; 5-BrdU; 5-Bromodeoxyuridine;
CAS 号 (CAS NO.)	59-14-3
分子式 (Formula)	$C_9H_{11}BrN_2O_5$
分子量 (Molecular Weight)	307.10
外观 (Appearance)	白色或类白色粉末
熔点 (Melting Point)	187-189 $^{\circ}$ C
纯度 (Purity, HPLC)	$\geq 99\%$
溶解性 (Solubility)	溶于 1M 氢氧化铵 (50 mg/mL)，水 (高达 10 mg/mL)；溶于 DMF, DMSO, 水 (加热) (50-100 mg/mL)

结构式 (Structure)



运输和保存方法

冰袋运输。-25~-15 $^{\circ}$ C 干燥保存，有效期 2 年。

操作步骤

1. BrdU 储存液的准备 用 1X DPBS 充分溶解适量的 BrdU 配置 10 mg/mL 的母液，过滤除菌后，按照 0.5 mL/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。

2. 体内 BrdU 标记

1) 腹腔注射法 (常用): 无菌的 10 mg/mL (溶于 DPBS) 适用于体内注射用。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。

3. 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 (也可选择 4%多聚甲醛固定 15min)。

6) PBS 清洗细胞 3 次, 每次 5 min。

7) 加入 2M HCl 中室温孵育 30 min-60min。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) 用 0.1M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (等体积步骤 7) 2M HCl 的量) 室温浸泡 15min, PBS 浸洗玻片 3 次, 每次 10min (适当延长时间和加大体积, 完全洗净);

10) 吸水纸吸干 PBS, 在玻片上滴加正常山羊血清, 室温封闭 30min;

11) 吸水纸吸掉封闭液, 勿清洗, 滴加足量稀释好的一抗, 并放入湿盒中, 4°C 孵育过夜; PBS 清洗 3 次, 每次 5 min;

12) 加入稀释好的荧光二抗, 湿盒室温孵育 1h; PBS 清洗 3 次, 每次 5 min;

13) 核复染: 滴加 DAPI, 避光孵育 5min-10min, PBS 清洗 3 次, 每次 5 min;

14) 用吸水纸吸干多余液体, 用抗淬灭封片剂封片, 于荧光显微镜下观察拍照

4. 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 mm^2 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°, CO_2 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

1) 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

2) 该产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。

3) 本产品仅作科研用途!