



EdU (动物注射)

产品描述

细胞增殖是评价细胞活性、代谢、生理和病理状况的重要指标。EdU (5-Ethynyl-2'-deoxyuridine) 是一种胸腺嘧啶核苷类似物, 其连有的炔基团在天然化合物中很少见, 能够在细胞增殖时期代替胸腺嘧啶(T)掺入正在复制的 DNA 分子中, 通过基于 EdU 与荧光染料的特异性共轭反应, 把荧光基团标记到新合成的含有 EdU 的 DNA 上面, 这样可以进行高效快速的检测出 DNA 复制活性, 此技术广泛应用于细胞增殖、细胞分化、生长与发育、DNA 损伤修复等方面的研究。

传统的免疫荧光染色(BrdU)检测方法需要 DNA 变性、抗原修复、抗原抗体过夜孵育等复杂繁琐的操作步骤。而 EdU 检测方法不需要剧烈的 DNA 变性, 只需温和的细胞固定化和透化处理, 能够较好地保护细胞形态、DNA 整体结构及细胞内抗原识别位点, 操作步骤更加快速、灵敏和准确。EdU 与胸腺嘧啶(T)结构非常相似, 大小却只有 BrdU 抗体的 1/500, 很容易在细胞内扩散; 无需抗原抗体反应, 能在细胞和组织水平更快速便捷地反映 DNA 复制活性。

本试剂适用于小鼠、大鼠及其它动物模型的各种组织器官的细胞增殖情况检测。

订购信息

产品名称	货号	规格
EdU (动物注射)	AC11L271	2 mg
EdU (动物注射)	AC11L272	10 mg

产品组分

组分	试剂量	规格
EdU 粉末	2 mg	20 T
EdU 粉末	10 mg	100 T

运输与保存

常温运输。4°C保存, 有效期 12 个月。

使用方法

本试剂盒适用于各种动物活体注射, 稳定性较好, 对活体无副作用。注射标记后可将目标组织制备为石蜡或冰冻切片进行 EdU 染色检测。【注】: 切片后可搭配 EdU 细胞增殖成像分析试剂盒 (货号: AC11L251) 使用, 进行后续的切片 EdU 染色检测。

动物实验方法, 以 1cm×1cm 切片为例

实验前须知: EdU 的分子量为 252.223, 易溶于水, PBS, 生理盐水等溶液, 便于动物注射使用。建议 EdU 的初始给药量为 5 mg/kg, 稀释浓度为 0.5-1 mg/mL。具体动物模型的注射剂量可根据相关文献进行调节。【注】: 我们根据每只小鼠 20 g 的体重为例, 10 mg EdU 粉末可以注射 100 只小鼠 (100T)。

动物 EdU 注射

注: ①注射方式: 依据实验决定, 如: 腹腔注射、皮下注射、肌肉注射、尾静脉注射等方式。

②标记时间: 最佳标记时间依据具体实验目的而定, 增殖快速的组织及器官采用短时间标记 (<12 h) (例如小肠), 增殖速度慢的组织及器官可采用长时间标记 (如 7 d 或更长时间, 例如大脑)。

③标记浓度: 最佳标记浓度依据具体实验而定。



- ④取样部位：根据实验目的而定，一次标记可对多种组织和器官进行组织切片。因小肠上皮组织增殖速度较快，标记时间较短（动物注射 6 d 后取组织），建议预实验可以取小肠组织检测细胞增殖情况，作为阳性对照。

切片处理

1. 切片前处理：组织器官先进行清洗，以去除血液、组织或器官中残留的 EdU，降低背景。
2. 切片厚度：3-10 μm 为宜，切片过厚可能影响切片背景。
3. 切片后处理：①石蜡切片脱蜡：二甲苯洗脱 3 次，每次 10 min，乙醇梯度（100%，95%，85%，75%）脱水各 1 次，去离子水洗脱 1 次。②冰冻切片处理：室温放置 30 min 后，4°C 丙酮固定 10 min，PBS 清洗 3 次，每次 5 min。
4. 2mg/mL 甘氨酸清洗切片 10 min。
5. 加入 100 μL 0.5% Triton X-100 细胞通透剂，室温孵育 10 min，再用 PBS 清洗 1 次。

后续进行 EdU 染色步骤需要搭配 EdU 细胞增殖成像分析试剂盒（货号：AC11L251）进行以下步骤：

EdU 染色

1. 通过用 10:1 去离子水稀释反应缓冲液，进行配制 1× 反应缓冲液。
2. 按照溶解 200 mg 缓冲添加剂溶于 1 mL 去离子水的比例称取适量的粉末进行溶解，即为可用的缓冲添加剂的浓度，建议现用现配。【注】：缓冲添加剂为白色粉末，较难准确称量，称量范围可稍微放宽，但是不应超过 $\pm 20\%$ ，且该粉末较易氧化，使用后请旋紧管盖，如试剂出现棕黄色，则需报废或更换。
3. 按照以下的表格进行染色反应液的配制：

染色反应液组分	500 μL	1 mL	2 mL	5 mL
1X 反应缓冲液	430 μL	860 μL	1.8 mL	4.3 mL
催化剂溶液	20 μL	40 μL	80 μL	200 μL
TAMRA 红色荧光溶液	1.2 μL	2.5 μL	5 μL	12.5 μL
缓冲添加剂	50 μL	100 μL	200 μL	500 μL

4. 加入以上配置好的检测混合液，以覆盖组织为宜，避光、室温孵育 30 min。
5. 弃染色反应液，加入 300 μL 0.5% Triton X-100 细胞渗透液清洗 2-3 次，每次 10 min。
6. 弃细胞渗透液，用 PBS 洗两次，每次 5 min。

其它染色（自备）

（可选）可以根据实验需要进行细胞表面或细胞内抗原的抗体染色。

DNA 染色

1. 将 Hoechst 33342 *超级纯*（货号：AC12L021）用 PBS 溶液 1:1000 进行稀释得到 1×Hoechst 染色液。
2. 加入 150 μL 1×Hoechst 染色液，室温避光孵育 10-15 min 后，弃染色液。
3. PBS 清洗细胞 2-3 次，去掉洗液。

图像获取及分析

建议染色完成后立即进行荧光显微镜拍照观察；如果条件限制，请于 4°C 条件下避光湿润保存 3 d 之内完成拍照。可使用抗荧光淬灭封片剂进行封片后于 4°C 条件下保存及拍照检测。

荧光染料	最大激发波长	最大发射波长	荧光颜色
TAMRA	541 nm	567 nm	橘红色荧光
Hoechst 33342	350 nm	461 nm	蓝色荧光

注意事项

1. 本产品仅限于科学实验研究使用，不得用于临床诊断、治疗等领域。