

## EdU 细胞增殖检测试剂盒

### 【检测原理】

EdU(5-ethynyl-2'-deoxyuridine), 中文名为 5-乙炔基-2'-脱氧尿苷, 是一种胸腺嘧啶核苷类似物, 其炔基集团在天然化合物中很少见, 在细胞增殖时能够替代胸苷(胸腺嘧啶脱氧核苷, thymidine) 插入正在复制的 DNA 分子中, EdU 上的乙炔基能与荧光标记的小分子叠氮化物探针(如 Azide Alexa Fluor 488 等)通过一价铜离子催化发生共价反应, 形成稳定的三唑环, 该反应非常迅速, 被称作点击反应(Click reaction), 从而可以进行高效快速的检测细胞增殖, 特别是可以有效地检测处于 S 期的细胞百分数。

与传统的免疫荧光染色(BrdU)检测方法相比, EdU 只有 BrdU 抗体大小的 1/500, 在细胞内更容易扩散, 不需要严格的样品变性(酸解、热解、酶解)处理, 有效地避免了样品损伤, 有助于在组织、器官的整体水平上观测细胞增殖的真实情况, 具有更高的灵敏度和更快的检测速度。

### 【试剂盒组成】

| 货号 Code     | 品名 Product name       | 储存条件 Storage condition |
|-------------|-----------------------|------------------------|
| AFIHC029 -A | PB 5ml                | -20°C                  |
| AFIHC029 -B | AC 1ml                | -20°C                  |
| AFIHC029 -C | CU 200µl              | -20°C                  |
| AFIHC029 -D | 红色色原 5µl              | -20°C                  |
| AFIHC029 -E | 100mg/ml EdU 母液 100µl | -20°C                  |

备注: AC 为粉剂, 使用之前需要加入 1mL 纯水, 充分溶解之后再使用, 不使用时放入冰箱-20 度保存。

### 【运输保存】

冰袋运输, -20°C 储存, 可稳定储存一年。

### 【动物 EdU 注射】

对于小鼠, 可以按照 10-200mg/kg 的用量, 把 EdU 用 PBS 配制成一定浓度, 腹腔注射、特定组织或器官局部注射或者加入饮水中。具体用量跟所用动物的种类、体重和使用方式有关, 可以参考相关文献, 因此初次使用时建议对 EdU 的使用浓度进行一定的摸索, 或者直接使用 50mg/kg 的浓度进行测试。

注射方式: 依据客户实验而定, 如腹腔注射, 皮下注射, 肌肉注射, 尾静脉注射等, 其中以腹腔注射为多。

6 小时或根据特定实验确定适当的时间后, 快速处死小鼠, 取出所需组织, 按照常规步骤制作冰冻切片或石蜡切片。EdU 标记的时候也可参考相关文献自行调整。

建议任何实验均可取小肠组织检测细胞增殖情况, 小肠上皮组织细胞增殖快, 成年小鼠 EdU 注射 6 小时后即可检测到阳性信息, 可用作阳性对照进行预实验。

### 【切片处理】

切片前处理: 组织器官最好进行清洗, 以去除血液、组织中残留的 EdU, 降低背景。

切片厚度: 3-5µm 为宜, 切片过厚可能会影响切片背景

切片后处理:

- 1) 石蜡切片脱蜡: 二甲苯脱蜡 2 次, 15 分钟/次, 乙醇梯度 (100%, 95%, 85%, 75%) 洗脱各一次, 5 分钟/次, 去离子水洗脱 1 次。
- 2) 冰冻切片处理: 室温放置 30 分钟后, 固定 10 分钟, PBS 清洗 3 次, 每次 5 分钟。



### 【EdU 反应】

按照【PB:CU:红色色原: AC】 = 【860:40:1:100】的比列配制 EdU 反应液。(反应液现配现用)  
每片组织滴加 50-100 $\mu$ l 的 EdU 染色反应液, 室温避光孵育 15 分钟, 弃染色反应液, PBS 冲洗 3 次, 每次 5 分钟。

### 【其他染色】

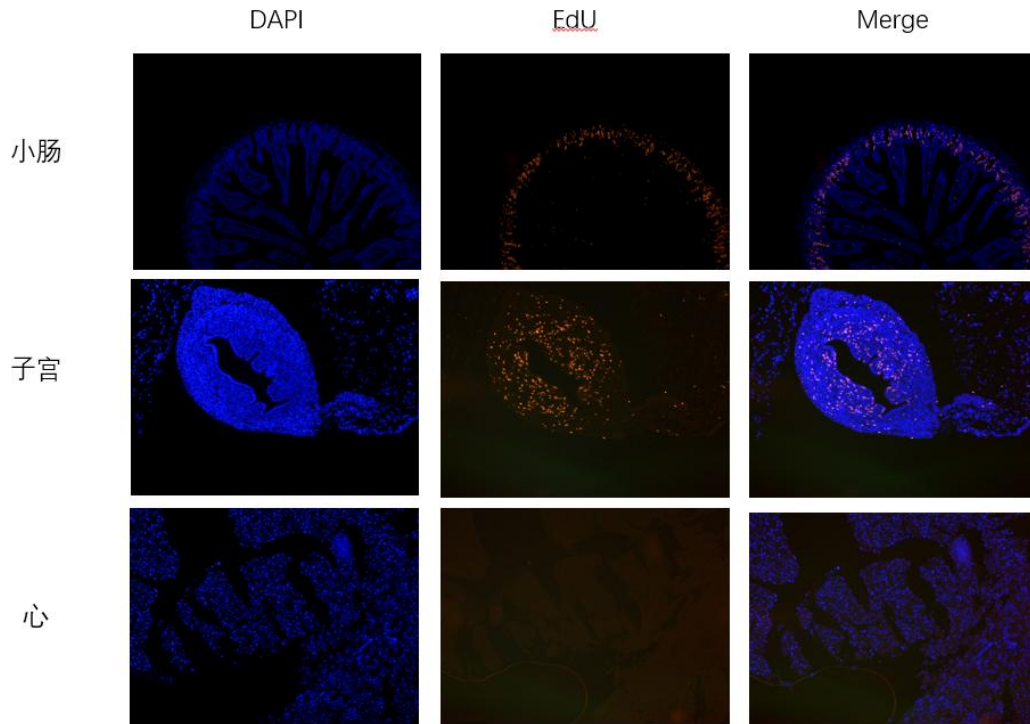
客户可以根据需要进行细胞表面或者细胞内抗原染色

### 【DAPI 染色】

每片组织加入 50-100 $\mu$ l DAPI 染色液, 染色 15 分钟, PBS 洗脱三次, 每次 5 分钟。

### 【图像拍照】

染色完成后建议立刻观察, 使用荧光显微镜或共聚焦显微镜采集图像, 本试剂盒荧光染料发射波长 570, 为红色荧光试剂盒, 染色完玻片避光 4 $^{\circ}$ C 保存。



以上是 50mg/kg 标记小鼠 6 小时的染色图像

### 【实验前须知】

EdU 的分子量为 252.23, 易溶于水, PBS, 生理盐水。

对于动物实验, 建议将 EdU 粉末溶解于 DMSO 配制成 100mg/ml 的母液。

EdU 建议初始给药量为 50mg/kg (50 $\mu$ g/g), 稀释浓度为 0.5~1mg/mL。小鼠体重 20g, 需要注射 1mg, 以 1mg/ml 计算, 需要注射 1ml。

|     |             |     |     |      |
|-----|-------------|-----|-----|------|
| EdU | 0.1mg       | 1mg | 2mg | 10mg |
| PBS | 100 $\mu$ l | 1ml | 2ml | 10ml |



对于细胞实验，建议将 EdU 粉末溶解于 DMSO 配制成 50mM 储存液，配制用量见下表：

|      |         |       |         |
|------|---------|-------|---------|
| EdU  | 2mg     | 10mg  | 50mg    |
| DMSO | 158.6ul | 793ul | 3.965ml |

推荐的 EdU 工作浓度为 10 $\mu$ M。

---

## 基本信息

---

|       |  |
|-------|--|
| 注册企业  | 湖南艾方生物科技有限公司   |
| 注册地址  | 长沙高新开发区麓云路 100 号兴工国际产业园 11 栋 303B                        |
| 生产地址  | 长沙高新开发区麓云路 100 号兴工国际产业园 11 栋 303B                        |
| 电 话   | 0731-85584686  |
| 网 址   | <a href="http://www.afantibody.cn">www.afantibody.cn</a> |
| 说明书版本 | 编制日期：2022.2.1  |

---

