



BrdU Cell Proliferation Assay Kit

I. 产品信息

目 录 号: CP001

规 格: 50T

保 存: 见“试剂盒组分”

效 期: 一年

II. 背景简介

5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU), 是人工合成的胸腺嘧啶类似物, 在 DNA 合成期(S 期), BrdU 能够代替胸腺嘧啶而插入正在复制的 DNA 分子中。这种掺入可以稳定存在, 随着 DNA 复制进入子代细胞中。然后用荧光标记的 BrdU 抗体进行染色, 从而对细胞增殖进行检测。

本试剂盒采用酸化变性的方法, 减少对其他细胞蛋白的损伤。随后, 用 FITC anti-BrdU 染色, 总 DNA 用 PI/RNase A Staining Buffer 进行复染。使用流式双色检测, 分析掺入了 BrdU 的细胞(增殖的细胞)在细胞周期中所处的阶段(G0/G1、S、G2/M)。本试剂盒的试剂可用于检测 5 次阳性对照和 50 次样本。

III. 试剂盒组分

组分编号	组分名称	瓶/管盖颜色	规格	储存条件
CP001A	Positive Control Cells	白色	5 ml	-20℃, 避光
CP001B	BrdU Solution	粉色	1.2 ml	
CP001C	Wash Buffer	蓝色	175 ml	2 - 8℃, 避光
CP001D	Rinse Buffer	红色	130 ml	
CP001E	Denaturation Buffer	无色	60 ml	
CP001F	Neutralization Buffer	绿色	60 ml	
CP001G	FITC anti-BrdU	橙色	300 μ l	
CP001H	PI/RNase A Staining Buffer	棕色	23 ml	

IV. 使用方法

1. 细胞标记

1.1 标记培养细胞: 在最适环境下培养细胞(细胞密度在临界对数生长期, 并至少传代 2 次), 每 10 ml 培养基加入 20 μ l BrdU Solution (粉色盖) (BrdU 是光敏型, 须避光加入和孵育, 同时注意加入时不要影响细胞生长)。然后细胞培养箱中孵育细胞至最佳的孵育时间。对于增殖快的细胞可能孵育 20 - 40 分钟, 而对于增殖慢的细胞可能需要孵育至 36 小时。BrdU 的最佳孵育时间根据细胞的类型和增殖时间来确定。

1.2 标记活体细胞: 通常有 2 种 BrdU 标记方法对小鼠或大鼠活体进行标记:

1.2.1 腹腔注射 BrdU 溶液: 腹腔注射 334 μ l (1 mg) BrdU 溶液, 掺入的 BrdU 可在 1 小时内骨髓和其他部位被检测到。

1.2.2 饮水摄取 BrdU: 每 ml 饮用水中加入 300 μ l BrdU 溶液。每天新鲜制备饮水, 应保持一整周喂养, 使之更好地掺入, 且毒性最小。

2. 收集 1×10^6 - 5×10^6 个细胞, 300 \times g 离心 5 分钟, 用移液器小心吸弃上清。

3. 加入 1 ml Wash Buffer(蓝色盖)重悬沉淀, 300 \times g 离心 5 分钟, 用移液器小心吸弃上清。

4. 轻微震荡, 使沉淀重悬在残余的 Wash Buffer 中。将细胞缓慢加入到适量-20℃预冷的 70%的乙醇中, 使细胞密度达到 1×10^6 - 2×10^6 个/ml, 边加边涡旋搅拌。 -20℃固定过夜或保存直至使用。

5. 检测当天, 取 1 ml 已固定的细胞样本至流式管中, 取 1 ml Positive Control Cells(白色盖)作为阳性对照(大约 1×10^6 个细胞)至流式管中, 300 \times g 离心 5 分钟, 用移液器小心吸弃乙醇, 勿破坏细胞沉淀。

Product For Research Use Only Ver: CP001-01

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: info@liankebio.com



6. 加入 1 ml Wash Buffer(蓝色盖)重悬细胞沉淀, 300 ×g 离心 5 分钟, 用移液器小心吸弃上清。重复洗涤一次。
7. 加入 1 ml Denaturation Buffer(无色盖)重悬细胞沉淀, 室温孵育 30 分钟。400 ×g 离心 10 分钟, 弃上清。
8. 立即加入 1 ml Neutralization Buffer(绿色盖)重悬细胞沉淀, 400 ×g 离心 10 分钟, 弃上清。
9. 加入 2 ml Rinse Buffer(红色盖)重悬细胞沉淀, 400 ×g 离心 10 分钟, 弃上清。
10. 加入 95 μl Rinse Buffer(红色盖)和 5 μl FITC-Anti-BrdU(橙色盖)重悬细胞沉淀, 室温避光孵育 1 小时。
11. 孵育结束后, 再加入 400 μl PI/RNase A Staining Buffer(棕色盖), 室温避光孵育 30 分钟。
12. 在 3 小时内进行流式检测。在检测分析时, 应排除黏连细胞。

V. 结果示例

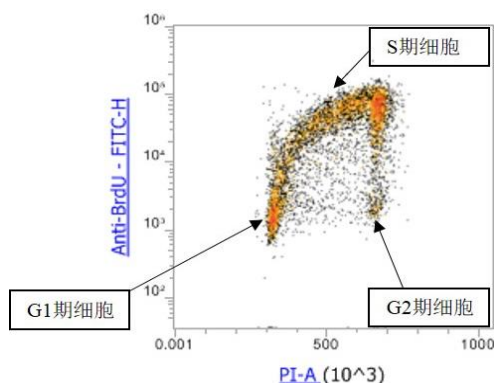


图. BrdU Cell Proliferation Assay Kit (CP001)检测 Jurkat 细胞增殖(已排除黏连细胞)。

VI. 注意事项

1. 请在使用本产品前仔细阅读说明书。本产品仅用于科研, 不可用于诊断。
2. 为了您的安全和健康, 请穿戴实验防护服、手套、口罩等必要的防护装备。
3. 更多流式相关产品敬请关注联科生物网站或来电咨询。

VII. 部分相关产品

目录号	产品名称	规格
AP101-30	Annexin V-FITC/PI apoptosis kit	30 T
AP104-30	Annexin V-PE/7-AAD apoptosis kit	30 T
AP105-30	Annexin V-APC/7-AAD apoptosis kit	30 T
AP107-30	Annexin V-APC/PI apoptosis kit	30 T
APO001	Direct TUNEL Apoptosis Assay Kit	50 T
CC01	胰蛋白酶-EDTA 消化液(含酚红)	100 ml
CC03	胰蛋白酶消化液(含酚红)	100 ml
CCS01	Cell cycle staining buffer	50 T
CCS012	Cell cycle staining Kit	50 T
MJ101	Mitochondria Staining Kit (JC-1)	125 T
LSB01	Lysing solution for FACS 10×	100 T
LSC01	FCM Lysing solution for BC (ready-to-use)	100 T
LYS01	FCM Lysing solution (Fixative Free) 10×	100 T

Product For Research Use Only Ver: CP001-01

MultiSciences Biotech Co., Ltd

Technical Service: tech@liankebio.com

To place an order: info@liankebio.com