



## BrdU Cell Proliferation Assay Kit

### I. 产品信息

目 录 号: CP001

保 存: 见“试剂盒组分”

规 格: 50T

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°C, 避光
CP001B	BrdU Solution	粉色	1.2 ml	
CP001C	Wash Buffer	蓝色	175 ml	
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 µl	
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 µl 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BrudU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 µl(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 µl 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 $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ 个细胞，300 × 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 × 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°C预冷的70%的乙醇中，使细胞密度达到 $1 \times 10^6 - 2 \times 10^6$ 个/ml，边加边涡旋搅拌。-20°C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 $1 \times 10^6$ 个细胞)至流式管中，300 × 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,  $300 \times g$  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。 $400 \times g$  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,  $400 \times g$  离心 10 分钟, 弃上清。
9. 加入 2 ml Rinse Buffer(红色盖)重悬细胞沉淀,  $400 \times g$  离心 10 分钟, 弃上清。
10. 加入 95  $\mu l$  Rinse Buffer(红色盖)和 5  $\mu l$  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  $\mu l$  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

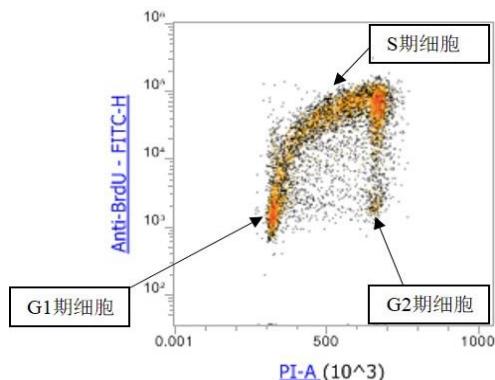


图. BrdU Cell Proliferation Assay Kit (CP001) 检测 Jurkat 细胞增殖(已排除黏连细胞)。

## 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 $\times$	100 T
LSC01	FCM Lysing solution for BC (ready-to-use)	100 T
LYS01	FCM Lysing solution (Fixative Free) 10 $\times$	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