

产品说明书

EDU (5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷)

产品货号: E6032S, E6032M, E6032L

产品规格: 2 mg, 10 mg, 50 mg

产品参数

分子量: 252.2

溶解性: 可溶于水、PBS 或生理盐水

CAS号: 61135-33-9

储存条件

-20°C 储存, 有效期见外包装。

产品介绍

EdU, 即 5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷 (5-Ethynyl-2'-deoxyuridine) 是一种胸腺嘧啶核苷类似物, 能够在细胞增殖时期代替胸腺嘧啶 (T) 渗入正在复制的 DNA 分子中, 通过基于 EdU 与 YF® 系列荧光标记染料的特异性反应快速检测细胞 DNA 复制活性, 可以快速准确检测细胞增殖能力。

本产品系列适用于小鼠, 大鼠及其他动物模型的各种组织器官 (血管除外) 的 EdU 细胞增殖检测。

与 BrdU 检测方法相比, EdU 检测方法用量小得多, 十分之一的用量即可获得与 BrdU 检测试剂盒相同甚至更好的检测结果, 而且小分子化学反应检测方法反应快, 效率高, 反应时间仅需几分钟, 不需要 DNA 变性、蛋白酶处理、抗原抗体过夜孵育, 能够更好地保护细胞形态, 更简单、更灵敏、更快速、更准确。

实验前须知

本制品需与 C6015、C6016、C6017、C6018 等 EdU 成像试剂盒配合使用。

EdU 适用于各种动物活体注射, 稳定性较好, 对活体无明显副作用, 可将目标组织制备为石蜡或冰冻组织切片后检测; 本试剂也适用于体外培养的细胞增殖检测。

组织及切片处理相关试剂

- 去离子水
- 1×PBS (pH 7.2~7.6)
- 固定剂 (丙酮)
- 通透液 (0.5% Triton X-100 in PBS)
- 甲醇



- 免疫组化笔
- EdU 检测试剂
- 中性树脂

注意：请使用一次性手套，废液请妥善处理。

动物 EdU 注射造模及组织切片染色

实验前须知

表 1 EdU 注射液配置参考

EdU	0.1 mg	1 mg	2 mg	10 mg	50 mg	500 mg
PBS	100 μ L	1 mL	2 mL	10 mL	50 mL	500 mL

EdU 建议初始给药量为 5 mg/kg，稀释浓度为 0.5~1 mg/mL。

注：a. 可采用 PBS 或生理盐水稀释。

b. 注射时可将 EdU 注射液进一步稀释，不会影响 EdU 的稳定性。

表 2 动物实验 EdU 标记时间及剂量参考

PubMed ID	Reference	Species	Method	Amount	Time	Tissue
18272492	Salic A, et al. PNAS. 2008	Mice	腹腔注射	100 μ g	96 h	Brain
19554638	Kaiser CL, et al. Laryngoscope. 2009	Chicken	皮下注射	50 mg/kg	72 h	Cochlear
19494148	Guo F, et al. J Neurosci. 2009	Mice	腹腔注射	100 μ g/g body weight	3 h	Brain
19179611	Veres. TZ, et al. Am J Pathol. 2009	Mice	腹腔注射	50 mg/kg	3 h/20 h	-
20664699	Wiley LA, et al. Mol Vis. 2010	Mice	腹腔注射	100~200 μ g	1 h	Eye
20163731	Schmidt EJ, et al. BMC Dev Biol. 2010	Mice	腹腔注射	200 μ g	30 min	embryo
20064490	Zeng C, et al. Brain Res. 2010	Mice	腹腔注射	50 mg/kg	4 h~30 d	Brain
20038597	Janas ML, et al. J Exp Med. 2010	Mice	腹腔注射	100 μ g	4 h	Thymi
21145612	Sun H, et al. J Hepatol. 2011	Mice	腹腔注射	100 μ g	72 h	-

注：另可参考 BrdU 实验的注射时间，EdU 浓度按本说明书建议起始浓度或另行摸索。

1. EdU 标记

(1) 动物 EdU 注射（具体参数可参考表 2）：

- 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、尾静脉注射等方式，其中以腹腔注射为多。
- 标记时间：最佳标记时间依据具体实验目的而定，小肠等增殖快的组织宜采用短时间标记（<12 h），大脑等增殖慢的组织器官可能需要长时间标记（如 7 天或更长时间）。
- 标记浓度：最佳标记浓度依据具体标记时间而定，5 mg/kg 剂量适合大部分实验。
- 取样部位：依据客户实验目的而定，一次标记可以对多种组织和器官切片，由于小肠上皮组织增殖较快，可以作为标记参考。



注：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速度快，成年小鼠 EdU 注射 6 h 后即可检测到阳性信息，可用作实验阳性对照进行预实验。

2. 切片处理

(1) 切片前处理：组织器官最好进行清洗，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：

a. 石蜡切片处理：二甲苯脱蜡 2 次，每次 10 min，乙醇梯度（100%，95%，85%，75%）水合各 1 次，每次 5 min，去离子水清洗 1 次，每次 3 min。

b. 冰冻切片处理：放置恢复到室温，加入适量丙酮，4°C 固定 10 min。去除固定液，用 PBS 清洗 3 次，每次 5 min。

注：建议根据实验选择合适的固定剂，若使用甲醛类固定剂进行固定，固定完成需先加入 2 mg/mL 甘氨酸清洗 10 min，中和残留的固定液，再进行 PBS 清洗。

(4) 将切片稍甩干，用组化笔在组织周围画圈（防止液体流走），稍干后在圈内加入适量通透液（0.5% Triton X-100 in PBS），覆盖样本即可，室温孵育 15 min，去除通透液后用 PBS 清洗 3 次，每次 5 min。

注：若在后续实验操作中发现组画笔画的圈被破坏，需及时补画。在组织固定和通透期间，配制 Click-iT 反应混合物（配制体系参考以下表 3 中方案）。

以下是使用本产品进行 EdU 标记后，选择 C6015、C6016、C6017、C6018 等 EdU 成像试剂盒进行染色的操作方法。

3. EdU 检测

注意：本参考步骤每个切片使用 100 μL 的 Click-iT 反应混合物。用户可以根据自己的样本情况调整等比例减少所用的溶液体积。

(1) 准备 1 \times Click-iT EdU 反应缓冲液（组分 C）：10 \times 组分 C 试剂以去离子水稀释 10 倍即可。

(2) 制备一份 5 \times 的 Click-iT EdU 反应添加物储液（组分 E）：加 0.3 mL 去离子水至 30 mg 的 E 组分试管中（100 mg/mL），混匀至全部溶解。使用后，剩余储液存放在 $\leq 20^\circ\text{C}$ ，可保存一年，溶液一旦呈现棕色，则说明有效成分降解不能再用。

注意：不同规格的组分 E 均按照此比例加去离子水溶解为 5 \times 储液备用。

(3) 准备 1 \times Click-iT EdU 缓冲液添加物：以去离子水稀释 5 \times 储液至 1 \times ，溶液应新鲜配置，当天用完。

(4) 依据表 3 准备 Click-iT 反应混合物。表 3 要求添加的组分对于反应来说非常重要，否则反应无法有效进行。

表 3 Click-iT 反应混合物

反应组分	以 10 个组织样本数为例
1 \times Click-iT EdU 反应缓冲液（组分 B）	860 μL
CuSO_4 （组分 C）	40 μL
YF [®] 488/555/594/647A Azide（组分 A）	2 μL
1 \times 反应缓冲液添加物（步骤 3.3 所准备）	100 μL
总体积	1 mL

(5) 去除步骤 2 (4) 的 PBS，加入 100 μL Click-iT 反应混合物（表 3）至每个切片，使反应混合物均匀覆盖样本。

注：染色反应液的用量要依据切片大小而定，大多数器官切片均较小，只需将染色反应液滴在待观察区域即可。



(6) 室温避光孵育 30 min。

(7) 去除反应混合物，用 3% BSA in PBS，清洗 3 次。

(8) (加强) 加入适量甲醇清洗 2 次，覆盖样本即可，每次 5 min。去除甲醇，加入适量 PBS 清洗 3 次，每次 5 min。

注：由于某些细胞类型对染料的吸附性较高，需采用加强方式洗脱以降低染料背景。

4. DNA 复染

(1) 以 PBS 稀释 Hoechst 33342 (组分 F) 储液 1:2000 至 1×Hoechst 33342 溶液，终浓度为 5 μg/mL。

(2) 去除步骤 3 (8) 的 PBS，加入 100μL Hoechst 33342 溶液至每个切片，覆盖样本即可，室温避光孵育 20 min (建议根据实际染色情况对染色液浓度及染色时间上下摸索)。

(3) 去除 Hoechst 33342 溶液，加入适量 PBS 清洗 3 次，每次 5 min。

5. 封片

(1) 石蜡切片：去除 PBS，将石蜡切片依次放入 75%乙醇 2 min-85%乙醇 2 min-95%乙醇 2 min-无水乙醇 5 min-无水乙醇 5 min，进行脱水，放入二甲苯中 5 min，进行透明，最后将切片从二甲苯取出，向样本上加入中性树胶进行封片。

(2) 冰冻切片：去除 PBS，向样本上加入中性树胶进行封片。

6. 成像及分析

表 4 荧光发射光谱

Fluorophore	Excitation (nm)	Emission (nm)
YF [®] 488 Azide	495	519
YF [®] 555 Azide	555	565
YF [®] 594 Azide	594	617
YF [®] 647A Azide	650	670
Hoechst 33342, bound to DNA	350	461

建议封片完成后立即进行荧光显微镜拍照观察；如果条件限制，可将切片避光置于阴凉干燥处暂存，尽快观察拍照。

注意事项

1. 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验。
2. 该产品对皮肤有不可逆损伤的可能性，请注意防护，避免吸入性风险。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

