

## 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷

产品编号	产品名称	包装规格
NBS5813-100mg	5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷	100mg
NBS5813-1g	5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) 5-溴-2' -脱氧尿苷	1g

### 产品简介:

BrdU, 英文全称 5-bromo-2'-deoxyuridine, 中文全称 5-溴-2' -脱氧尿苷, 是一种合成的胸苷溴化类似物, 在 S 期可替代胸苷选择性插入细胞 DNA。BrdU 通常和广泛用于测定 DNA 合成和标记分裂细胞, 最后用来研究诱导细胞增殖的信号通路和其他生理过程。BrdU 通过体外细胞培养或体内注射的方式进行探针加载, 然后用抗 BrdU 的抗体进行特异性检测。

BrdU 标记后, 对组织或细胞进行固定和透化后, 需要额外的 DNA 水解步骤 (有时也称 DNA 变性), 从而允许抗 BrdU 的抗体能够与插入 DNA 的 BrdU 结合。BrdU 抗体能够与其他细胞标记物如 Ki67, 双皮质素 (DCX) 和 NeuN 联合使用来鉴定增殖细胞和新分化神经元。

### 产品特性

- 1) CAS NO: 59-14-3
- 2) 化学名: 5-Bromo-1-[(2R,4S,5R)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]pyrimidine-2,4-dione
- 3) 英文同义名: 5-Bromodeoxyuridine, 5-bromo-2'-deoxy-uridine, 5-Bromouracil deoxyriboside, Broxuridine, 5-Bromo-1-(2-deoxy-β-D-ribofuranosyl)uracil, Br-dU, BUdR, 5-BrdU
- 4) 中文同义名: 5-溴去氧尿苷, 5-溴脱氧尿苷, 溴尿嘧啶苷, 5-溴尿嘧啶-2' -脱氧核苷
- 5) 分子式: C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O
- 6) 分子量: 307.10 g/mol
- 7) 纯度: ≥99% (HPLC)
- 8) 外观: 白色至类白色粉末
- 9) 溶解性: 溶于 DMSO (20mg/ml), 无水乙醇 (~25mg/ml), 水 (10mg/ml)

## 保存条件:

-20°C 干燥保存, 至少 2 年有效。

## 产品使用:

### 1. BrdU 标记: 体外标记细胞

制备 BrdU 储存液 (10mM): 称取 3mg BrdU (Mw: 307.10) 溶于 1ml 去离子水, 充分溶解即可。

用细胞培养基按照 1:1000 的比例将储存液稀释到 10 $\mu$ M BrdU 染色液, 并在无菌条件下用 0.2 $\mu$ m 滤膜对染色液进行过滤除菌。

吸掉细胞内培养基并更换无菌的 10 $\mu$ M BrdU 染色液, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱 37°C 孵育 1-24h。

【注意】: BrdU 孵育时间取决于细胞分裂速度。原代细胞可能要高达 24h, 但快速增值细胞系可能仅需 1h。达到最佳信噪比的时间需要通过优化条件来确定。

吸掉细胞内染色液, 用 PBS 清洗 2 次, 每次至少 5s。

根据标准免疫细胞化学 (ICC) 操作流程进行细胞固定和透化。但是在开始免疫染色前需参照下述的 DNA 水解步骤。

### 2. BrdU 标记: BrdU 体内标记

【注意】: BrdU 体内标记方法比较多, 常见的有腹腔注射法 (Intraperitoneal injection) 和口服法。以下为腹腔注射法的步骤, 其他方法可参考文献或根据实验室固有经验操作。

用 1 $\times$ PBS 溶解适量的 BrdU 配制成 10mg/ml 储存液, 过滤除菌, 按照单次用量分装冻存后待用, 避免反复冻融。

对于小鼠, 通用情况注射浓度为 100mg/kg。

BrdU 标记完成后, 根据实验室已成的步骤处理动物。【注意】: BrdU 插入快速分化组织比如小肠, 在注射后 30min 就能检测到。但大多数组织可能需要高达 24h 才能检测到。合适的处理时间和注射剂量需要根据组织类型来优化。

### 3. DNA 水解 (DNA 变性步骤)

#### 3.1 细胞样本

用 1-2.5M HCl 室温孵育细胞 10min-1h, 实际的 HCl 浓度和孵育时间根据实验来优化。如果使用更短的孵育时间, 37°C 孵育可能比室温孵育效果更好

可选步骤: 去除 HCl, 用 0.1M 硼酸钠缓冲液, pH 8.5 室温中和 30min。【注意】: 0.1M 硼酸钠缓冲液 (pH 8.5) 配置方法: 称取 3.8g 硼酸钠 (Mw=381.4) 加入 100ml 蒸馏水, 充分溶解后, 用 NaOH 调整到所需 pH。

用 PBS 清洗 3 次, 每次不少于 5s。

根据标准 ICC 操作流程继续后续染色。

### 3.2 组织切片

【注意】：对于石蜡切片必须先做脱蜡处理再进行 DNA 水解步骤。

用 1-2 M HCl 室温孵育切片 30min-1h，实际的 HCl 浓度和孵育时间根据实验来优化。如果使用更短的孵育时间，37°C 孵育可能比室温孵育效果更好。

可选步骤：去除 HCl，用 0.1M 硼酸钠缓冲液 (pH 8.5) 室温中和切片 10min。【注意】：0.1M 硼酸钠缓冲液，pH 8.5 配置方法：称取 3.8g 硼酸钠 (Mw=381.4) 加入 100ml 蒸馏水，充分溶解后，用 NaOH 调整到所需 pH。

用 PBS 清洗 3 次，每次不少于 5s。

根据标准 IHC 操作流程继续免疫染色步骤。

#### 注意事项：

1. BrdU 是一种诱变剂，操作过程一定要注意防护，不要与皮肤直接接触。另戴口罩避免粉尘吸入。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 相关内容 (与 anti-BrdU 的共染色)

目的：BrdU 常与其他抗体联合使用以鉴定增殖和新分化神经元。常见以下 3 个指标：

Ki67：反映增殖的细胞标记物，细胞周期 G1，S，G2 和 M 期有 Ki67 表达，但静止期 G0 无 Ki67 表达。Ki67 抗体能够替代或与 Brdu 联合使用来标记增殖神经元。

双皮质素 (Doublecortin, DCX)：微管相关的磷酸蛋白，由未成熟神经元表达。可与 BrdU 联合使用鉴定未成熟的有丝分裂后神经元。

NeuN：成熟神经元标记物，能与 BrdU 联合染色去鉴定新分化的神经元。

本产品仅用于生命科学研究，不得用于医学诊断及其它用途！