

EdU 染色试剂盒（红，AF555）

货号：HKI0022

【产品信息】

产品名称	产品货号	规格	有效期
EdU 染色试剂盒（红，AF555）	HKI0022	100T	一年

【产品简介】

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，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。

本试剂盒中荧光探针为红色荧光，最大激发波长为 557nm，最大发射波长为 570 nm，处于增殖的细胞被标记后，细胞核会显示出明亮的红色荧光，通过配套常规细胞核染料共同标记细胞核，可用荧光显微镜、激光共聚焦显微镜等仪器直接观察细胞增殖情况；也可以使用流式细胞仪检测体外培养细胞群荧光强度，根据荧光强度，来判断细胞周期中 S 期的 DNA 复制活性。

【储存与运输】

冰袋运输，-20℃ 储存，可稳定储存一年

【试剂组成】

货号	品名	规格
HKI0022-1	反应缓冲液 PB	5ml
HKI0022-2	催化剂 AC	1ml
HKI0022-3	催化剂 CU	200ul
HKI0022-4	红色色原	25ul
HKI0022-5	EdU 储存液	50ul

【使用方法】

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 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 小时后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：3–10 μm 为宜，切片过厚可能会影响切片背景。

切片后处理：

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。

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 μl 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 μl 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 AF555 对应的光谱特性为 Ex/Em: 557 nm/570 nm（红色）；DAPI 染色液对应的光谱特性为 Ex/Em: 358 nm/461 nm（蓝色）。

【注意事项】

1. 对于体外培养细胞，具体 EdU 使用浓度、孵育时间随样品以及研究目的的不同，可进行适当调整。
2. 部分组织细胞增殖速度缓慢，为了排除造模效果不佳等因素，建议选增殖快的组织样品作为参照样本（如肠道组织）。
3. 如果背景颜色过深，可能是实验中洗涤不充分、组织样品固定时间过长、固定液残余导致。
4. 催化剂 AC 颜色发生轻微变化，点击反应催化体系依旧能够正常进行，如呈现棕色，表明该组分已失效，请弃用。
5. 操作时请穿实验服，佩戴一次性手套。