

BrdU 细胞增殖检测试剂盒

产品简介：

BrdU 作为一种胸腺嘧啶核苷的类似物（其化学结构特点是胸腺嘧啶的碱基嘧啶环上与5位C 原子连接的甲基被溴代替），像胸腺嘧啶核苷一样可掺入到细胞合成的DNA 中。当细胞处于DNA 合成期（S 期）而同时又有BrdU 存在时，就会有BrdU 掺入新合成的DNA 中，只要细胞不消亡，这种BrdU 就在胞核的DNA中长期存留。

本试剂盒中的小鼠抗BrdU单克隆抗体可以与掺入进DNA的BrdU结合，再加入HRP标记的羊抗小鼠，最后通过TMB底物液显色，其显色值高低与BrdU掺入细胞量成正比。

产品优势：

与其他细胞增殖检测方法相比较，本试剂盒灵敏度高、没有放射性污染，其可以检测的最低检测限度为50-100个细胞，并且只检测新增殖细胞。

适用范围：

- 细胞因子、生长因子、分裂素和营养因子刺激后，监测和定量细胞增殖；
- 分析药物的细胞毒性，如抗癌药物等；
- 分析不同成分对细胞增殖的抑制或者刺激作用

样品类型：

贴壁或悬浮细胞

主要组分：

组分名称	规格	数量	存储
细胞培养板	96 孔	2	RT
BrdU 母液（100x）	250ul	1	-20℃
细胞固定液	25ml	1	-20℃
细胞变性液	25ml	1	4℃
BrdU 检测抗体（100x）	250ul	1	-20℃
HRP 标记羊抗小鼠（100x）	250ul	1	-20℃
抗体稀释液	30ml	2	4℃/-20℃
洗涤缓冲液（10x）	30ml	2	4℃
TMB 底物液	12.5ml	2	4℃
底物终止液	25ml	1	4℃
产品使用说明书		1	1

储存条件：

短期存放可放置2-8℃，长期存放请按说明分开存放。

建议使用之前先离心，将液体全部归集到管底，然后再开盖；

以下试剂根据所需要的使用量临用前配置，不建议长期储存；

10 x BrdU 溶液：使用前将BrdU 母液（100 x）用细胞培养液1:10 稀释成10 x BrdU 溶液；

BrdU 检测抗体：使用前将BrdU 检测抗体（100 x）用抗体稀释液1:100 稀释成工作液；

HRP 标记羊抗小鼠：使用前按需将HRP 标记羊抗小鼠（100 x）用抗体稀释液1:100 稀释；

洗涤缓冲液：使用前按需将洗涤缓冲液（10 x）用dH₂O 作1：10 稀释。

使用步骤：

1. 细胞培养：

细胞铺板培养，每孔2500-10000 个，在37℃ 5% CO₂ 孵箱中培养，根据细胞类型培养相应时间（细胞密度至50-60%左右最好），在合适的时候加入待测试的实验组分，培养到合适的时间。

2. 标记BrdU：

将10 x BrdU（5-溴-2'-脱氧尿苷）加入培养细胞中，终浓度为1X，培养标记1-48h(根据实验试剂需求来确定最佳标记时间，同时需要设置不加入BrdU作为空白对照)。

3. 固定与检测：

- 1) 丢弃细胞培养上清，每孔加入100ul 细胞固定液,室温固定30 分钟（根据细胞特点确定最佳固定时间）；
- 2) 吸干孔里溶液，每孔加入100ul 细胞变性液,室温变性5-15分钟（根据细胞特点确定最佳固定时间）；
- 3) 吸干孔里溶液，每孔加入300ul 洗涤液，洗三次；
- 4) 吸干孔里溶液，每孔加入100ul BrdU 检测抗体，37℃轻微震荡反应 1小时；
- 5) 吸干孔里溶液，每孔加入300ul 洗涤液，洗三次；
- 6) 加入稀释好的HRP 标记羊抗小鼠，每孔100ul，37℃反应 1小时；
- 7) 吸干孔内溶液，每孔加入300ul 洗涤液洗三次；
- 8) 每孔加入100ul TMB 底物液，室温反应5-15 分钟；
- 9) 每孔加入100ul 底物终止液，酶标仪上读取OD₄₅₀值。

注意事项：

- 1) 若是悬浮细胞，必须谨慎操作；细胞固定的时候必须小心吸取细胞上清，必要的时候适当离心；
- 2) 在多次洗涤过程中必须小心，不可将细胞洗掉；
- 3) 固定或变性不彻底都将导致本实验失败；
- 4) 加入底物之后显色必须谨慎，不要显色过度以至于背景太高；加入终止液之后需要立即读数。

特别提示：

- 1) 因细胞种类繁多和实验体系不同，细胞脱落不在本试剂盒质量投诉范围内；
- 2) 数据处理方法不在本产品投诉范围中；
- 3) 本试剂仅用于实验室科研使用。