

TransDetect[®] EdU Flow Cytometry Kit-594 Fluorophore

使用前请仔细阅读说明书

目录号: FU221

保存: 2-8°C避光保存一年。

产品说明

TransDetect[®] EdU Flow Cytometry Kit-594 Fluorophore是一种利用胸腺嘧啶脱氧核苷类似物5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU)检测细胞增殖能力的试剂盒。在DNA复制过程中, EdU可以插入到新合成的DNA双链结构中, 随后通过Click it反应使EdU被荧光基团标记, 利用流式细胞术检测, 根据荧光强度反映细胞周期S期DNA复制活性, 从而快速、灵敏地检测细胞增殖能力。594 Fluorophore最大激发波长为590 nm, 最大发射波长为617 nm。

与传统的BrdU检测方法相比, 本试剂盒无需抗体标记等额外步骤, 操作简便, 灵敏度高, 特异性强, 适用于药物筛选、细胞增殖测定、细胞毒性测定等实验。

产品特点

- 无需使用抗体, 操作简单。
- 灵敏度高, 特异性强。
- 应用范围广。

试剂盒组成

Component	50 rxns
EdU (10 mM)	1 ml
594 Fluorophore-FC	250 µl
Catalyst Solution (CS)	250 µl
EdU Buffer Additive (EBA)	2×200 mg
EdU Fixation Buffer (EFB)	5 ml
EdU Permeabilization/Wash Buffer (10×) (10×EPWB)	50 ml

操作步骤

自备

Product Name	Catalog
PBS (1×)	TransGen, Cat. FG701-01
BSA	Sigma, Cat. A1933

EdU标记

以6孔细胞培养板为例

1.1 准备0.5-1×10⁶个细胞接种于6孔细胞培养板中, 培养过夜或进行药物处理。

1.2 配制2×EdU工作液: 每1 ml细胞完全培养基中加入4 µl EdU (10 mM), 得到浓度为40 µM的2×EdU工作液。

1.3 将与原培养基等体积的2×EdU工作液加入至6孔细胞培养板中, 使培养液中EdU终浓度为20 µM, 37°C, 5% CO₂培养箱中孵育。不建议完全去掉原培养基, 否则可能会影响细胞正常增殖。同时设置1个不加EdU的对照组(用等体积的完全培养基替代2×EdU), 作为流式细胞术检测数据的染料背景分析。

细胞最佳孵育时间与细胞生长周期有关, 一般为细胞周期的1/10至1/5, 多数细胞系均可采用2小时孵育时间。初次检测建议设置梯度摸索最佳孵育时间, 不同细胞类型推荐孵育时间如下表所示:



细胞类型	细胞名称	孵育时间(小时)
肿瘤细胞	A549	2
	NS-1	2
	HeLa	2
原代细胞	HUVEC	2
神经细胞	SH-SY5Y	2
人胚胎干细胞	H9	24
其他细胞	NIH/3T3	1.5
	MARC145	1.5

1.4 胰酶消化，200×g离心5分钟，弃上清液，收集细胞。悬浮细胞可直接离心收集细胞。

细胞表面抗原染色(可选)

根据实验需要进行细胞表面抗原的染色。

细胞固定、通透处理

细胞固定、通透处理过程可以同时进行步骤3.1和3.2操作

2.1 配制1×EdU Permeabilization/Wash Buffer (1×EPWB): 取1 ml 10×EPWB, 加入9 ml含1% BSA的1×PBS, 得到1×EPWB。

2.2 用1 ml 1×PBS重悬细胞, 200×g离心5分钟, 弃上清液, 收集细胞。重复1次。

2.3 加入100 μl EdU Fixation Buffer (EFB), 室温固定15分钟。

2.4 200×g离心5分钟, 弃上清液。

2.5 用1 ml 1×PBS重悬细胞, 200×g离心5分钟, 弃上清液, 收集细胞。

2.6 加入100 μl 1×EPWB重悬细胞, 室温孵育15分钟。

EdU检测

3.1 配制10×EdU Buffer Additive (10×EBA) 溶液: 每管EBA中加入1 ml的去离子水, 震荡混匀至完全溶解。建议首次使用前对溶液进行分装, 避免反复取用造成氧化降解。该溶液置于2-8℃会有析出, 属正常现象, 震荡即可完全溶解。如果溶液变为棕黄色, 说明已发生降解, 则需更换。

3.2 配制1×EBA: 取100 μl 10×EBA, 加入900 μl超纯水, 得到1×EBA。

3.3 配制染色工作液: 在EP管中按顺序依次加入1×PBS, Catalyst Solution (CS), 594 Fluorophore-FC和1×EBA溶液, 加入量如下表所示, 吹吸混匀。配制完成后冰上放置, 建议30分钟内使用。

1×PBS	440 μl
CS	5 μl
594 Fluorophore-FC	5 μl
1×EBA	50 μl
Total	500 μl

3.4 向步骤2.6制备的细胞悬液中加入500 μl染色工作液, 重悬细胞, 室温避光孵育30分钟。

3.5 200×g离心5分钟, 弃染色液。

3.6 用1 ml 1×EPWB重悬细胞, 200×g离心5分钟, 弃上清液, 收集细胞, 重复2次。

3.7 用500 μl 1×EPWB重悬细胞。

其他染色(可选)

根据实验需要进行细胞内抗原染色。



流式检测及分析

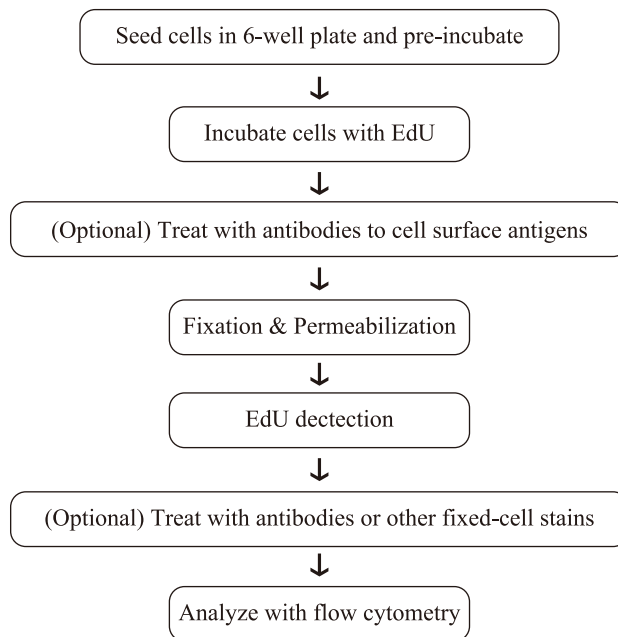
用流式细胞仪进行分析，选择合适的电压，如果进行多色分析需要调节光补偿。

594 Fluorophore最大激发波长为590 nm，最大发射波长为617 nm。

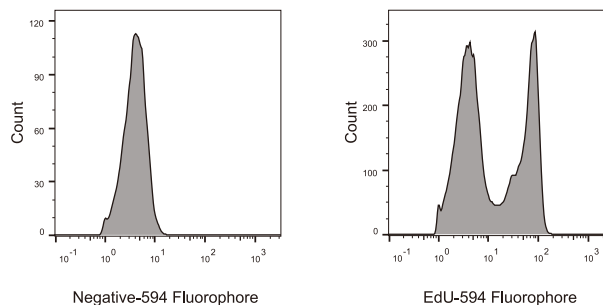
注意事项

- 实验进行前，所有组分需平衡至室温，确保各组分充分溶解混匀，点甩离心后使用。
- 不同细胞培养板/皿的细胞使用量有所差异，可根据操作步骤按照比例进行调整。
- 细胞固定后抗原染色均需采用1×EPWB稀释及清洗。
- 10×EBA溶液在2-8°C可保存3个月，若长期保存建议-20°C保存。

操作流程图



TransDetect[®] EdU Flow Cytometry Kit-594 Fluorophore检测A549细胞增殖的流式结果





品质高于一切
精品服务客户

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

Website www.transgen.com.cn
E-mail trans@transgen.com.cn

Customer Service +86-400-898-0321
Phone +86-10-57815030

