

EdU 检测细胞增殖

EdU(5-ethynyl-2'-deoxyuridine)是胸腺嘧啶脱氧核苷(thymidine)类似物,可以在 DNA 合成过程中掺入子代的 DNA 中,通过 Click chemistry 反应可以使 EdU 被 Alexa Fluor 555 所标记,从而检测出正处于增殖期(S 期)的细胞。本 Protocol 使用碧云天的 EdU 细胞增殖试剂盒

BeyoClick™ EdU-555 细胞增殖检测试剂盒

1. 在 6 孔板中加入盖玻片提前铺适当数量的细胞,过夜贴壁
2. 换新培养基,加入 10 mM EdU(1000x)到细胞培养液中到终浓度 10 μ M,培养孵育半小时
3. EdU 标记细胞完成后,去除培养液,加少量 PBS 轻轻涮洗 1 次后,加入 2 mL 4% PFA 室温固定 15 分钟,缓慢 rotor
4. 倒掉 4% PFA,倒扣吸干液体,加入 2 mL 0.5% TritonX-100,室温孵育 5 分钟
5. 倒掉通透液,倒扣吸干液体,加入 2 mL PBS 洗涤细胞 2 次,每次 5 分钟
6. 按照如下体系,准备 Click 反应液(15 分钟以内现用现配,避光)

总体积	20 μ L 体系	60 μ L 体系
Click Reaction Buffer	17.2	51.6
CuSO ₄	0.8	2.4
Azide 555(400 \times)	0.05	0.2
Click Additive Solution	2	6

7. 将反应液点在暗盒中,每个样品 20 μ L,夹出片子,吸干液体后倒扣在液滴上,避光孵育半小时
8. 用 PBS 洗涤 2 次,每次 5 分钟,期间配制 1:10000 DAPI 的 PBS 稀释液
9. 加入 DAPI 稀释液,避光染色 10 分钟,用洗涤液洗涤 2 次,每次 5 分钟
10. Mowiol、指甲油封片

修订日期 2024-04-23