

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司
武汉长衍病理科技有限公司

EdU 染色 (细胞爬片)

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
防脱载玻片	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0510
荧光显微镜	奥林巴斯有限公司	BX53
成像系统	3D HISTECH	Pannoramic SCAN II
移液枪	大龙兴创实验仪器(北京)股份有限公司	YE169AA0033229
组化笔	福州迈新生物技术开发有限公司	PEN-0002

2、主要试剂及货号

名称	厂家	货号
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	100092683
Triton® X-100 破膜液	BioFroxx	1139ML100
EdU 染液	碧云天	C0081S
TBS 缓冲盐粉	湖北百奥斯生物科技有限公司	BP0152
DAPI 溶液	Solarbio	C0060
荧光封片剂	Southern Biotech	0100-01

二、实验步骤

- 1、细胞爬片固定：**未经固定的细胞用 4%多聚甲醛固定 10 分钟。已固定的细胞室温放置 10 分钟，TBS 清洗。用组化笔在爬片边缘画圈。
- 2、破膜：**用 0.1%Triton®X-100 破膜 15 分钟。TBST 洗 3 次，每次 5 分钟。
- 3、孵育：**参考下表配制 EDU 反应液。取足够量新鲜配好的染液以覆盖住细胞，每张切片滴加 50-100 μ l（视细胞爬片大小而定），4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。注意：请严格按照下表中组分顺序和体积配制 Click 反应液，否则点击反应可能无法有效进行；

湖北省武汉市江汉区江兴路 18 号 2 号楼第 5、6 层

Tel: 400 118 0100

Fax: +86-027-87382710

Website: www.biossci.com

E-mail: support@biossci.com#

湖北百奥斯 (Biossci) 生物科技有限公司
武汉长衍病理科技有限公司

同时, Click 反应液须在配制后 15 分钟内使用。

组分	6 孔板样品数						
	1	2	4	5	10	25	50
Click Reaction Buffer	430 μ l	860 μ l	1.72ml	2.15ml	4.3ml	10.75ml	21.5ml
CuSO ₄	20 μ l	40 μ l	80 μ l	100 μ l	200 μ l	500 μ l	1ml
Azide 647	1 μ l	2 μ l	4 μ l	5 μ l	10 μ l	25 μ l	50 μ l
Click Additive Solution	50 μ l	100 μ l	200 μ l	250 μ l	500 μ l	1.25ml	2.5ml
总体积	500 μ l	1ml	2ml	2.5ml	5ml	12.5ml	25ml

4、染核: 第二天从冰箱拿出切片, 置于室温放置 15 分钟 (复温), 用 TBST 冲洗 3 次, 再浸洗 3 次, 每次 3 分钟。除去 TBST, 每张爬片滴加 50-100 μ l (视细胞爬片大小而定) DAPI 工作液 (用 DAPI 原液 1:500 配制), 避光染核 5 分钟后, 用 TBST 冲洗。

5、封片: 用荧光封片剂封片, 4 $^{\circ}$ C 避光保存。

6、镜检: 显微镜下镜检, 图像采集分析。

三、结果判读

DAPI 通道细胞核为蓝色, 647 通道细胞核呈紫红色。

四、注意事项

- 1、冲洗时不应直接将 TBST 对准爬片, 应将喷壶嘴对准孔板壁让水顺板壁流下, 避免将爬片上的细胞冲洗掉。
- 2、实验过程中注意做好标记, 在培养皿侧面画上标记, 避免将爬片弄混, 每个孔的爬片、孔板与孔板盖都应做好标记。
- 3、样本需要经 EdU 孵育处理。