



细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)

Cell autophagy test kit (MDC method)

产品货号: S0014

产品规格: 100T

保存条件: -20℃避光保存, 有效期 12 个月; 避免反复冻融。

产品简介:

自噬 (autophagy) 是细胞受到刺激后吞噬自身的细胞质或细胞器, 最终将吞食物在溶酶体内降解的过程, 自噬体 (autophagosome) 为双层膜包被的圆形或椭圆形结构, 内含细胞质、长寿蛋白质和异常蛋白聚集物, 损伤或多余细胞器如线粒体、粗面内质网和微体、病毒和细菌等。

丹酰尸胺 (Dansylcadaverine, MDC) 是一种荧光色素, 是嗜酸性染色剂, 通常被用于检测自噬体形成的特异性标记染色剂, 其检测激发滤光片波长 355-380nm, 阻断滤光片波长 512-530nm。MDC 染色液适用于培养细胞的荧光自噬染色, 又可用 FACS 检测细胞自噬发生的比例, 可与 EB 合用双染。

本产品仅用于科研, 不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 规格	100T	Storage
S0014 (A): MDC Stain (10×)	1ml	-20℃ 避光
S0014 (B): Stain buffer	50ml	4℃
S0014 (C): Wash buffer	100ml	4℃

使用说明:

(一) 玻片法:

1. 收集细胞, 用 300 ~ 500μl 的 Wash buffer 清洗细胞 1 次, 800 ~ 1000g 离心 5min, 弃上清。
2. 加入适量的 Stain buffer 重悬细胞, 计数并调节细胞浓度至 10^6 /ml。
3. 取 90μl 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中, 加入 10μl 的 MDC Stain(10×), 轻轻混匀。
4. 37℃或室温避光染色 15 ~ 60min。
5. 800 ~ 1000g 离心 5min, 弃上清, 收集细胞, 用 300 ~ 500μl 的 Wash buffer 清洗细胞 2 次, 800 ~ 1000g 离心 5min, 弃上清。
6. 加入 100μl 的 Wash buffer 重悬细胞, 滴加于载玻片上并加盖玻片。
7. 荧光显微镜下观察, 计数并拍照; 也可用流式细胞仪检测药物干预组 MDC 阳性细胞百分比。

(二) 96 孔板法:

1. 轻轻吸除 96 孔板中的培养液, 各孔加入 10μl 的 MDC Stain(10×)和 90μl 的 Stain buffer, 37℃ 5%CO₂ 避光孵育 15 ~ 60min。
2. 各孔加入 100μl Wash buffer 清洗 2 ~ 3 次。
3. 荧光显微镜或流式细胞仪检测观察。

(三) MDC 与 EB 双染法:

1. 收集细胞, 用 300 ~ 500μl 的 Wash buffer 清洗细胞 1 次, 800 ~ 1000g 离心 5min, 弃上清。
2. 加入适量的 Stain buffer 重悬细胞, 计数并调节细胞浓度至 10^6 /ml。

3. 取 90 μ l 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中，加入 10 μ l 的 MDC Stain(10 $\times$)和 0.2 μ M EB 染色液，轻轻混匀。
4. 滴加于在玻片上，室温避光染色 15 ~ 30min，加盖玻片。
5. 荧光显微镜或流式细胞仪检测观察。

染色结果：

正常细胞：细胞被均匀染成黄绿色荧光

凋亡细胞：染色质浓缩，细胞核碎裂成点状，被染成大小不一、致密浓染的绿色颗粒

注意事项：

1. MDC Stain 和 EB，试剂有一定毒性，请小心操作。
2. 操作过程中应注意减少试剂暴露于强光下的时间。
3. Wash buffer 可用 PBS 代替。
4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。