

MDC 染色液

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。自噬是一种进化上保守的降解过程,可靶向长寿命蛋白、细胞器及其他细胞质组分并通过溶酶体途径进行降解,自噬通路的激活对多种细胞功能都是必需的,包括饥饿状态下的存活、细胞内组分清除、发育及免疫等过程。

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 355nm,阻断滤光片波长 512nm。Leagene MDC 染色液适用于培养细胞的自噬染色,可与 EB 合用双染。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称	编号	DA0040	Storage
	MDC Stain		2×1ml
使用说明书			1份

自备材料:

- 1、低速离心机、1.5ml 离心管、载玻片、盖玻片、96 孔板、荧光显微镜、流式细胞仪
- 2、培养液、蒸馏水、磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)、PBS-Triton X-100(0.1~0.3%)

操作步骤(仅供参考):

(一)玻片法

- 1、收集细胞,用 300~500 μ l 的 PBS 清洗细胞 1 次,800~1000rpm 离心 5min,弃上清。
- 2、加入适量的 PBS-Triton X-100 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,轻轻混匀。
- 4、37℃或室温避光染色 15~45min。
- 5、800~1000rpm 离心 5min,弃上清,收集细胞,用 300~500 μ l 的 PBS 清洗细胞 2 次,800~1000rpm 离心 5min,弃上清。
- 6、加入 100 μ l 的 PBS 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(激发滤光片波长 355nm,阻断滤光片波长 512nm),计数并拍照。

(二)96 孔板法

- 1、配制 MDC 染色工作液：按 MDC Stain: PBS-Triton X-100=1: 9 的比例混合，即为 MDC 染色工作液；如不能及时用完，-20℃避光保存。
- 2、轻轻吸除 96 孔板中的培养液，加入 100μl MDC 染色工作液至各孔，37℃ 5%CO₂ 避光孵育 15~60min，各孔加入 100μl PBS 清洗 2~3 次。
- 3、荧光显微镜下观察(激发滤光片波长 355nm，阻断滤光片波长 512nm)，计数并拍照。

(三)MDC 与 EB 双染法

- 1、收集细胞，用 300~500μl 的 PBS 清洗细胞 1 次，800~1000g 离心 5min，弃上清。
- 2、加入适量的 PBS-Triton X-100 重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 10⁶/ml。
- 3、取 90μl 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中，加入 10μl 的 MDC Stain 和 0.2μM 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、荧光显微镜下观察(激发滤光片波长 355nm，阻断滤光片波长 512nm)，计数并拍照。

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 对人体有一定害处，请小心操作。
- 2、AO 常与 EB 染色合用，可区分出正常细胞、凋亡细胞及坏死细胞。
- 3、操作过程中应注意减少试剂暴露于强光下的时间。
- 4、试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月有效。低温运输，-20℃保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
DA0039	AO/EB 双荧光染色试剂盒
IH0019	PBS-Triton 溶液(破膜剂,0.3%)
IH0252	抗荧光淬灭封片剂
NA0091	EB 溶液(10mg/ml)
TO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)