

细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)

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，最终将吞噬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，通过溶酶体途径将长寿命蛋白、细胞器及其他细胞质等组分进行降解，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)，是一种嗜酸性的荧光色素，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。Leagene 细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法) 又称为 MDC 染色液，适用于培养细胞的荧光自噬染色观察，又可用 FACS 检测细胞自噬发生的比例，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	DA0041	Storage
试剂(A): MDC Stain(10×)		100T	
试剂(B): Stain Buffer		1ml	-20°C 避光
试剂(C): Wash Buffer		50ml	RT
		100ml	RT
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、磷酸盐缓冲液

操作步骤(仅供参考)：

(一)玻片法

- 1、收集细胞，用 300~500 μ l 的 Wash Buffer 清洗细胞 1 次，800~1000rpm 离心，弃上清，加入适量的 Stain Buffer 重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 10⁶/ml。
- 2、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×)，轻轻混匀。
- 3、37°C或室温避光染色。
- 4、800~1000rpm 离心，弃上清，收集细胞，用 300~500 μ l 的 Wash Buffer 清洗细胞 2

次, 800~1000rpm 离心, 弃上清。

- 5、加入 100 μ l 的 Wash Buffer 重悬细胞, 滴加于载玻片上并加盖玻片。
- 6、荧光显微镜观察计数并拍照, 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 10 μ l MDC Stain(10 \times)和 90 μ l 的 Stain Buffer, 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 条件下避光孵育。
- 2、各孔加入 100 μ l Wash Buffer 清洗 2~3 次, 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 300~500 μ l 的 Wash Buffer 清洗细胞 1 次, 800~1000rpm 离心, 弃上清, 加入适量的 Stain Buffer 重悬细胞, 计数并调节细胞浓度至 10⁶/ml。
- 2、取 90 μ l 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中, 加入 10 μ l MDC Stain(10 \times)和 0.2 μ M EB 染色液, 轻轻混匀, 滴加于载玻片上, 室温避光染色, 加盖玻片。
- 3、荧光显微镜或流式细胞仪检测观察。

染色结果:

荧光染色结果: 药物干预组细胞呈现了更高的荧光强度和更多的亮绿色 MDC 标记颗粒;
FACS 检测结果: 药物干预组 MDC 阳性细胞百分比高于对照组。

注意事项:

- 1、MDC Stain 和 EB 对人体有一定害处, 请小心操作。
- 2、收集细胞前可在培养液中加入不同浓度的药物培养一定时间, 诱导细胞自噬。
- 3、操作过程中应注意减少试剂暴露于强光下的时间。
- 4、Wash Buffer 可用 PBS 代替。
- 5、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。
- 6、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, 按要求保存。