

货号：ZC-A0346

规格：100T

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。

单丹磺酰尸胺(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。ZCIBIO 细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)适用于培养细胞的自噬染色，又称为 MDC 染色液，可与 EB 合用双染。该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称 \ 编号	ZC-A0346 100T	Storage
试剂(A): MDC Stain(500×)	30μl	-20℃ 避光
试剂(B): Stain buffer	50ml	4℃
试剂(C): Wash buffer	250ml	4℃
使用说明书	1 份	

自备材料：

- 1、低速离心机
- 2、1.5ml 离心管
- 3、载玻片、盖玻片
- 4、96 孔板
- 5、荧光显微镜

操作步骤(仅供参考)：

(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。加入适量的 Stain buffer 重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 10^6 /ml。
- 2、取 5μl MDC Stain(500×)加至 245μl Stain buffer，混匀，即为 MDC Stain(10×)。
- 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 15~45min。

- 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(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(500×)：Stain buffer=1：499 的比例混合，即为 MDC 染色工作液。如不能及时用完，应-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。
- 3、各孔加入 100μl Wash buffer 清洗 2~3 次。
- 4、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 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 10⁶/ml。
- 3、取 5μl MDC Stain(500×)加至 245μl Stain buffer，混匀，即为 MDC Stain(10×)
- 4、取 90μl 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中，加入 10μl 的 MDC Stain(10×)和 0.2uM EB 染色液，轻轻混匀。
- 5、滴加于在玻片上，室温避光染色 15~30min，加盖玻片。
- 6、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、Wash buffer 可用 PBS 代替，但 Stain buffer 不建议用 PBS 代替，否则有可能导致某些样品染色效果不佳。
- 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：-20℃保存，12 个月有效。