

# 细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

## 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。

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。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。

## 产品组成：

产品名称	规格	保存条件	说明书	有效期
细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)	100T	-20℃ 避光	1 份	1 年
试剂(A): MDC Stain	1ml	-20℃ 避光	1 份	1 年
试剂(B): 10× Wash buffer	20ml	4℃	1 份	1 年
试剂(C): Collection buffer	10ml	4℃	1 份	1 年

## 自备材料：

- 1、荧光显微镜
- 2、低速离心机
- 3、EB
- 4、载玻片、盖玻片

## 操作步骤(仅供参考)：

### (一)MDC 单独染色：

- 1、用去离子水稀释 10× Wash buffer 至 1×。
- 2、800g 离 5min，收集细胞，用 300~400  $\mu$ l 的 1× Wash buffer 清洗细胞 1 次，弃上清。
- 3、加入适量的 1× Wash buffer 重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 10<sup>6</sup>/ml。
- 4、取适量 90  $\mu$ l 的细胞悬液至新的 EP 管中，加 10  $\mu$ l 的 MDC Stain，轻轻混匀。
- 5、室温避光染色 15~45min。
- 6、800g 离心 5min，收集细胞，用 300~400  $\mu$ l 的 1× Wash buffer 清洗细胞 2 次，弃上清。

7、加入 100  $\mu$ l 的 Collection buffer 重悬细胞，滴加于载玻片上并加盖玻片。

8、荧光显微镜下观察(激发波长 355nm，发射波长 512nm)，计数并拍照。

**(二)与 EB 双染色:**

1、用去离子水稀释 10 $\times$  Wash buffer 至 1 $\times$ 。

2、800g 离心 5min，收集细胞，用 300~400  $\mu$ l 的 1 $\times$  Wash buffer 清洗细胞 1 次，弃上清。

3、加入适量的 1 $\times$  Wash buffer 重悬细胞，计数并调节细胞浓度至 106/ml。

4、取适量 90  $\mu$ l 的细胞悬液至新的 EP 管中，分别加入 10  $\mu$ l 的 MDC Stain 和 0.2 $\mu$ M 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(激发波长 355nm，发射波长 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 试剂有一定毒性，请小心操作。

2、吖啶橙染色常与 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、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**相关产品:**

Western 抗体洗脱液(碱性)
Western blot 一抗稀释液
Tris-HCl 缓冲液(1mol/L, pH8.0)
SSC 缓冲液(20 $\times$ , pH7.0)