北京沃凯生物科技有限公司
全国免费电话:400-819-385
www.bjoka-vip.com
Tel:010-62971590. Fax:62340519
M-ail:postmaster@oka-vip.com

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 355~380nmnm，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:

编号 / 名称	GCDA0041 100T	Storage
试剂(A): MDC Stain(10×)	1ml	-20℃ 避光
试剂(B): Stain Buffer	50ml	RT
试剂(C): Wash Buffer	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 300～500μl 的 Wash Buffer 清洗细胞 1 次，800～1000rpm 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 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。

3、37℃或室温避光染色 15～60min。

4、800～1000rpm 离心 5min，弃上清，收集细胞，用 300～500μl 的 Wash Buffer 清洗

细胞 2 次，800～1000rpm 离心 5min，弃上清。

5、加入 100μl 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 10μl MDC Stain(10×)和 90μl 的 Stain Buffer，37℃ 5%CO_2 条件下避光孵育 15～60min。

2、各孔加入 100μl 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 300～500μl 的 Wash Buffer 清洗细胞 1 次，800～1000rpm 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 90μl 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中，加入 10μl MDC Stain(10×)和 0.2uM EB 染色液，轻轻混匀，滴加于载玻片上，室温避光染色 15～60min，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。

相关产品：

产品编号	产品名称
GCCC0005	磷酸缓冲盐溶液(1×PBS,无钙镁)
GCDA0065	台盼蓝染色液(0.4%)
GCIH0019	PBS-Triton 溶液(破膜剂,0.3%)
GCIH0252	抗荧光淬灭封片剂
GCTO1013	丙二醛(MDA)检测试剂盒(TBA 比色法)