



## 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。

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。NOVON 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,可不 EB 合用双染。

### 产品组成:

|                          |        |         |
|--------------------------|--------|---------|
| 名称                       | SS1626 | 保存条件    |
| 试剂(A): MDC Stain         | 1ml    | -20℃ 避光 |
| 试剂(B): 10× Wash buffer   | 20ml   | 4℃      |
| 试剂(C): Collection buffer | 10ml   | 4℃      |
| 使用说明书                    | 1 份    |         |

### 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 1× Wash buffer 至 1×。
- 2、 800g 离心 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 106/ml。
- 4、 取适量 90  $\mu$ l 的细胞悬液至新的 EP 管中, 加入 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(激发滤光片波长 355nm, 阻断滤光片波长 512nm), 计数并拍照。

#### (二)、与 EB 双染色:

- 1、 用去离子水稀释 1× Wash buffer 至 1×。
- 2、 800g 离心 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  $1 \times$  Wash buffer 重悬细胞，计数并调节细胞浓度至  $10^6/\text{ml}$ 。
- 4、取适量  $90 \mu\text{l}$  的细胞悬液至新的 EP 管中，分别加入  $10 \mu\text{l}$  的 MDC Stain 和  $0.2 \mu\text{M}$  EB 染色液，轻轻混匀。
- 5、滴加于在玻片上，室温避光染色  $15 \sim 30 \text{min}$ ，加盖玻片。
- 6、荧光显微镜下观察(激发滤光片波长  $512 \text{nm}$ )，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、吖啶橙染色常不 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。

**有效期：** 12 个月有效。