

细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)

产品货号: R23340

产品规格: 100T

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。尚宝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	100T	保存条件
试剂(A): MDC Stain(500×)	30μL	-20℃, 避光
试剂(B): Stain buffer	50ml	4℃
试剂(C): Wash buffer	250ml	4℃

自备材料:

1. 低速离心机
2. 1.5ml 离心管
3. 载玻片、盖玻片
4. 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。
2. 加入适量的 Stain buffer 重悬细胞,计数并调节细胞浓度至 10^6 /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×),轻轻混匀。
5. 37℃或室温避光染色 15~45min。
6. 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。
7. 加入 100μl 的 Wash 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)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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

2. 轻轻吸除 96 孔板中的培养液，加入 100 μ l MDC 染色工作液至各孔，37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 避光孵育 15~60min。
3. 各孔加入 100 μ l 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 300~500 μ l 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 5 μ l MDC Stain(500 \times)加至 245 μ l Stain buffer，混匀，即为 MDC Stain(10 \times)。
4. 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 \times)和 0.2 μ 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。

有效期：12 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>