

## Autophagy Staining Assay Kit with MDC

### 细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)

| 产品编号    | 产品名称              | 规格   |
|---------|-------------------|------|
| BL1139A | 细胞自噬染色检测试剂盒(MDC法) | 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。

细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法),即 Autophagy Staining Assay Kit with MDC,是一种使用丹酰尸胺,也称单丹磺酰尸胺或丹酰戊二胺(monodansylcadaverine, MDC)作为荧光探针快速便捷地检测细胞自噬的试剂盒。丹酰尸胺(Dansylcadaverine, MDC)是一种嗜酸性的荧光色素,是细胞自噬检测最常用的荧光探针之一,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 355~380nm,阻断滤光片波长 512~530nm。细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)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,又称为 MDC 染色液,可与 EB 合用双染。

#### 产品组分:

| 产品编号       | 产品名称           | 规格    | 储存条件     |
|------------|----------------|-------|----------|
| BL1139A -1 | MDC Stain(10×) | 1ml   | -20°C 避光 |
| BL1139A -2 | Stain Buffer   | 50ml  | 4°C      |
| BL1139A -3 | Wash Buffer    | 100ml | 4°C      |

#### 使用方法: (仅供参考)

##### (一)玻片法

1. 收集细胞,用 300~500 $\mu$ l 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<sup>6</sup>/ml。
2. 取 90 $\mu$ l 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中,加入 10 $\mu$ l 的 MDC Stain(10 $\times$ ),轻轻混匀。
3. 37°C或室温避光染色 15~60min。
4. 800~1000g 离心 5min,弃上清,收集细胞,用 300~500 $\mu$ l 的 Wash Buffer 清洗细胞 2 次,800~1000g 离心 5min,弃上清。
5. 加入 100 $\mu$ l 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 10 $\mu$ l MDC Stain(10 $\times$ )和 90 $\mu$ l 的 Stain Buffer,37°C 5%CO<sub>2</sub> 条件下避光孵育 15~60min。
2. 各孔加入 100 $\mu$ l 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

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意:在体外研究使用,不用于诊断或治疗用途,本产品不是医疗装置。





1. 收集细胞，用 300~500 $\mu$ l 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<sup>6</sup>/ml。
2. 取 90 $\mu$ l 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中，加入 10 $\mu$ l MDC Stain(10 $\times$ )和 0.2 $\mu$ M 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蓝色 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. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
6. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 保存条件：

MDC Stain(10 $\times$ )需-20 $^{\circ}$ C 避光保存，其他成分保存于 4 $^{\circ}$ C，12 个月有效。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

