

细胞自噬染色检测试剂盒（MDC 法）

说明书修订日期：2015.11.27

Cat number: KGATG001

Store at 2-8°C for 12 months, protected from light

For Research Use Only(科研专用)

一、试剂盒说明

单丹磺酰尸胺（monodansylcadaverin, MDC）是一种荧光色素，其检测激发滤光片波长 355nm。阻断滤光片波长 512nm。MDC 是一种嗜酸性染色剂，通常被用作检测自噬体形成的特异性标记染色剂。

细胞自噬(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。

凯基细胞自噬染色检测试剂盒（MDC 法）为您提供便捷成套的 MDC 染色试剂，使用中如有疑问可致电我们的技术支持，025-84989809。

二、试剂盒组份

组分	KGATG001 100 assays	储存条件
MDC 染液	1 mL	2-8°C，避光
10×Wash Buffer	15 mL	2-8°C
Collection buffer	10 mL	

注（1）：100 tests 针对 24 孔细胞爬片（荧光显微镜观察），如果您通过荧光酶标仪读数检测结果，本试剂盒可以做 30~50 tests.

注（2）：10×Wash Buffer 临用前，以去离子水稀释至 1×Wash Buffer 后，再使用。

三、试剂盒以外自备仪器和试剂

荧光显微镜、低速离心机、微量移液器、1.5mL Micro-tube、载玻片、盖玻片、EB（自备、选做）

四、使用注意事项

MDC 染液有毒，操作时请戴手套。

五、操作方法

1. MDC 单染

A. 悬浮细胞:

- 800g, 5min 离心收集细胞，加入 300μL 1×Wash Buffer 洗一次，加适量的 1×wash buffer 重悬，调节细胞浓度约为 10^6 /mL。
- 吸取 90μL 的细胞悬液至新的 eppendorf 管中，加入 10μL 的 MDC 染液，轻轻混匀；
- 室温避光染色 15~45min 后，800g, 5min 离心收集细胞，1×Wash Buffer, 300μL 洗三次，再以 100μL 的 collection buffer 重悬。
- 将重悬液滴加于载玻片上，加盖玻片；
- 荧光显微镜，激发滤光片波长 355nm。阻断滤光片波长 512nm 观察，计数、拍照。

B. 贴壁细胞:

- (1) 贴壁细胞于 24 孔板内爬片至所需要的汇合度, 弃去培养液, 加入 300 μ L 1 \times Wash Buffer 洗二次。
- (2) 以 1 \times Wash Buffer: MDC 染色液体积比=9:1 稀释染色液至工作浓度, 计算一次实验所需要的染色液体积, 配制 MDC 染色工作液, 轻轻混匀;
- (3) 每孔加入 100 μ L MDC 染色工作液, 室温避光染色 15~45min 后, 弃去染色液, 以 1 \times Wash Buffer, 300 μ L 洗三次, 再以 100 μ L 的 collection buffer 覆盖细胞爬片, 荧光显微镜, 激发滤光片波长 355nm。阻断滤光片波长 512nm 观察, 计数、拍照。(注意: 此步骤在 1 \times Wash Buffer 洗涤完成之后以防淬灭封片剂封片后在荧光显微镜下检测)

2. 与 EB 双染 (选做步骤)

- (1) 收集细胞, 1 \times Buffer A 洗一次, 加适量的 1 \times Buffer A 重悬, 调整细胞浓度约为 10⁶/mL;
- (2) 吸取 90 μ L 的细胞悬液, 加入 EB 染料(0.2 μ M)和 MDC 染液各 10 μ L, 轻轻混匀; (EB: ex-530nm, em-590nm)
- (3) 滴加于载玻片上, 室温避光染色 15~30min 后, 加盖玻片;
- (4) 荧光显微镜, 滤光片 512nm 观察, 计数、拍照。

凯基相关产品 (详见凯基网站 www.keygentec.com.cn)

细胞株、细胞提取物及细胞培养产品

- 人类肿瘤细胞株
- 鼠肿瘤细胞株
- 正常细胞株
- 肿瘤耐药细胞株
- 细胞培养相关产品

细胞凋亡

一、细胞凋亡研究试剂盒

- Annexin V-FITC/ EGFP/PE 细胞凋亡检测试剂盒
- TUNEL 凋亡原位检测系列试剂盒
- Caspase 系列细胞凋亡检测试剂盒
- 线粒体膜电位检测试剂盒 (JC-1、JC-10)
- DNA Ladder 检测试剂盒

二、细胞凋亡相关抗体

三、凋亡诱导剂、抑制剂

四、氧化应激损伤检测试剂盒

五、细胞凋亡研究辅助试剂

细胞增殖/毒性/活力与细胞周期

- 凯基细胞周期检测试剂盒
- MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
- XTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂
- WST-1 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒
- CFSE 细胞增殖与示踪检测试剂盒

亚细胞组分制备