



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 细胞自噬染色检测试剂盒(MDC 法)

### 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355~380nm,阻断滤光片波长512~530nm。源叶生物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。

### 组成:

名称 \ 编号	R22204 100T	Storage
试剂(A): MDC Stain(10×)	1ml	-20℃ 避光
试剂(B): Stain Buffer	50ml	4℃
试剂(C): Wash Buffer	100ml	4℃
使用说明书	1 份	

### 自备材料:

- 1、低速离心机、1.5ml 离心管



- 2、培养液、蒸馏水、磷酸盐缓冲液
- 3、载玻片、盖玻片、96 孔板
- 4、荧光显微镜、流式细胞仪

## 操作步骤(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，800~1000rpm 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<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 $^{\circ}$ C 或室温避光染色 15~60min。
- 4、800~1000rpm 离心 5min，弃上清，收集细胞，用 300~500 $\mu$ l 的 Wash Buffer 清洗细胞 2 次，800~1000rpm 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 $^{\circ}$ 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

- 1、收集细胞，用 300~500 $\mu$ l 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<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



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

---

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、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。