

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、长寿蛋白质和异种蛋白聚集物、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。Leagene 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。

产品组成:

名称 \ 编号	DA0041 100T	Storage
试剂 (A) : MDC Stain(10×)	1ml	-20℃ 避光
试剂 (B) : Stain Buffer	50ml	RT
试剂 (C) : Wash Buffer	100ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、低速离心机、1.5ml 离心管、载玻片、盖玻片、96 孔板、荧光显微镜、流式细胞仪
- 2、培养液、蒸馏水、磷酸盐缓冲液

操作步骤 (仅供参考):

(一) 玻片法

- 1、收集细胞, 用 300~500 μ 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 10^6 /ml。
- 2、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×), 轻轻混匀。
- 3、37℃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 μ l 的 Wash Buffer 清洗

细胞 2 次, 800 ~ 1000rpm 离心 5min, 弃上清。

5、加入 100 μ 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 μ l MDC Stain(10 $\times$)和 90 μ l 的 Stain Buffer, 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 条件下避光孵育 15 ~ 60min。

2、各孔加入 100 μ 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 μ 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 10⁶/ml。

2、取 90 μ l 细胞悬液至新的 1.5ml 离心管中, 加入 10 μ l MDC Stain(10 $\times$) 和 0.2 μ 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、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

6、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。低温运输, 按要求保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
CC0005	磷酸缓冲盐溶液 (1 $\times$ PBS, 无钙镁)
DA0065	台盼蓝染色液 (0.4%)
IH0019	PBS-Triton 溶液 (破膜剂, 0.3%)
IH0252	抗荧光淬灭封片剂
TO1013	丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (TBA 比色法)

文献引用:

- 1、 Yang Gen,Lu Chunyang,Mei Zhusong,et al.Association of Cancer Stem Cell Radio-Resistance Under Ultra-High Dose Rate FLASH Irradiation With Lysosome-Mediated Autophagy.Frontiers in Cell and Developmental Biology.April 2021.10.3389/fcell.2021.672693.(IF 6.684)
- 2、 Xu Guangya,Yan Xueling,Hu Zhongjia,et al.Glucocappasalin Induces G2/M-Phase Arrest, Apoptosis, and Autophagy Pathways by Targeting CDK1 and PLK1 in Cervical Carcinoma Cells.Frontiers in Pharmacology.May 2021.10.3389/fphar.2021.671138.(IF 5.811)
- 3、 Ying-Jie Hu,Jing-Ying Zhang,Qian Luo,et al.Nanostructured Dihydroartemisinin Plus Epirubicin Liposomes Enhance Treatment Efficacy of Breast Cancer by Inducing Autophagy and Apoptosis.Nanomaterials.October 2018.10.3390/nano8100804.(IF 3.504)
- 4、 Shurong Zheng,Weida Fu,Qidi Huang,et al.LncRNA PRKCQ-AS1 regulates paclitaxel resistance in triple-negative breast cancer cells through miR-361-5p/PIK3C3 mediated autophagy.CLINICAL AND EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY AND PHYSIOLOGY.February 2023.10.1111/1440-1681.13758.(IF 2.9)
- 5、 Weiwei Lu,Huaiqiu Cai,Yao Chen,et al.Ghrelin inhibited pressure overload - induced cardiac hypertrophy by promoting autophagy via CaMKK/AMPK signaling pathway.PEPTIDES.November 2020.10.1016/j.peptides.2020.170446.(IF 2.843)
- 6、 Chengcheng Xu,Yao Wu,Lili Tang,et al.Protective effect of cistanoside A on dopaminergic neurons in Parkinson's disease via mitophagy.BIOTECHNOLOGY AND APPLIED BIOCHEMISTRY.April 2022.10.1002/bab.2350.(IF 2.724)
- 7、 Li Fan,Hai Li,Weihoa Wang,et al.Long non-coding RNA PRRT3-AS1 silencing inhibits prostate cancer cell proliferation and promotes apoptosis and autophagy.EXPERIMENTAL PHYSIOLOGY.February 2020.10.1113/EP088011.(IF 2.431)

注：更多使用本产品的文献请参考产品网页