

产品组成：

规格	200-1000 T	400-2000 T
试剂 A: MDC 染料	500 μ l	1 ml
试剂 B: 检测缓冲液	15 ml	30 ml

- 注：染料长期不用可以-20℃保存。**避免反复冻融。**
- 染色液 A 为 DMSO 溶液，冬季气温较低时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热融解，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
- 可以用手捂住使其融解或 37℃ 短时间水浴。吸头也需要放在培养箱预热，否则容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。

储存条件：

染料-20℃避光保存；避免反复冻融；
缓冲液 2-8℃保存。

有效期：一年。

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。自噬是溶酶体介导的胞内降解途径，是真核细胞在恶劣环境（比如营养缺乏）威胁时引发的降解和细胞内容物再循环的过程。这一途径在对各种应激条件进行应答从而在促进细胞内环境平衡、能量平衡和细胞存活上具有重要的作用，更多的证据表明自噬功能与多种疾病密切相关，包括癌症、神经退行性疾病、糖尿病、自身免疫性疾病和心血管疾病。

细胞自噬检测试剂盒是采用 MDC 染色法染色细胞内自噬体的检测试剂盒，该产品可代替传统 LC3-GFP 法，通过荧光示踪物来选择性检测自噬通路中的各种囊泡包括自噬前体、自噬体和自溶酶体，用于流式细胞仪，无需转染，就能在荧光显微镜下跟踪活细胞的自噬过程进行定量分析，或用流式细胞仪进行高通量筛选，甚至能标记原代细胞。并且该产品可以进行自噬通路的动力学分析，为研究者展现自噬体形成和消除之间的动态平衡。

细胞自噬检测试剂盒中的自噬体染色探针为绿色荧光标记的自噬体探针，具有 335nm / 518nm 的最大激发/发射波长。

产品特点：

1. 使用方便，从细胞中提取蛋白不需经过研磨、反复冻融、超声破碎等前处理。
2. 将蛋白提取的时间缩短至 30 分钟-1 小时。
3. 含蛋白稳定剂，提取的蛋白稳定。
4. 紫外检测蛋白浓度时，背景干扰低。
5. 蛋白酶抑制剂抑制了蛋白的降解，蛋白酶抑制剂配方优化。蛋白酶抑制剂混合物包含 7 种独立的蛋白酶抑制剂；每一种抑制剂可特异性抑制某一种或几种蛋白酶活性。该混合物优化的组成使其可以抑制几乎所有重要的蛋白酶活性，包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、丙氨酰-氨基肽酶等。

使用方法：

使用注意事项：

- MDC 染色液为 DMSO 溶液，冬季气温较低时在室温时为凝固状态，极易粘附在管壁、吸头壁。注意需要加热溶解，吸头也需要放在培养箱预热，否则容易再次凝固在吸头内壁产生损耗。
- 使用前，先将本品取出回温至室温，并对其进行简短离心使 DMSO 溶液集中于管底。
- 细胞处理需要小心操作，尽量避免人为的损伤细胞。
- 标记的条件因细胞种类而异，根据同样本的实际染色结果做相应调整，在每次实验前，请先根据不同的实验要求、细胞类型、细胞的膜通透性等进行优化，确定最佳条件。以下方法仅供参考。
- 染色后立即进行分析。

1. 染色工作液配制：

根据样本数量，用检测缓冲液将 MDC 荧光染料 10 倍稀释，再用相应的培养基或者 HBSS 缓冲液 40-200 倍稀释，配制成染色工作液。

2. 细胞染色

2.1 对于贴壁细胞

- 1) 将细胞置于培养皿中的盖玻片上，加入合适培养基，使其爬片生长。
- 2) 待细胞生长到合适丰度，吸除培养液，加入适量 37℃ 预热的含 MDC 探针工作液。于生长状态下孵育 15 分钟-1 小时（具体孵育时间需根据细胞类型而定）。
- 3) 利用新鲜培养基或 PBS 替换上述染色液并在荧光显微镜（含合适滤片）下观察。

2.2 对于悬浮细胞

- 1) 离心，吸除上清。
- 2) 利用 37℃ 预热的探针工作液重悬细胞，于生长状态下孵育 15 分钟~1 小时（具体时间需根据细胞类型而定）。
- 3) 离心，吸除染色液，加入新鲜培养液或 PBS 重悬细胞。
- 4) 置于荧光镜下观察或流式检测。

3. 观察结果：

在荧光显微镜（含合适滤片）/酶标仪/流式细胞仪下观察细胞。

最大激发/发射波长为 335/518 nm。