

Caspase 3/7 Activity Detection Substrate for Flow Cytometry

Cat. No: E-CK-A483

Size: 20 Tests/100 Tests

产品编号	组分名称	20 Tests	100 Tests	Storage
E-CK-A483	Caspase 3/7 Substrates(Green) (1mM)	20 μ L	100 μ L	2-8°C, shading light
	说明书		一份	

保存条件

2-8°C避光保存 1 年。

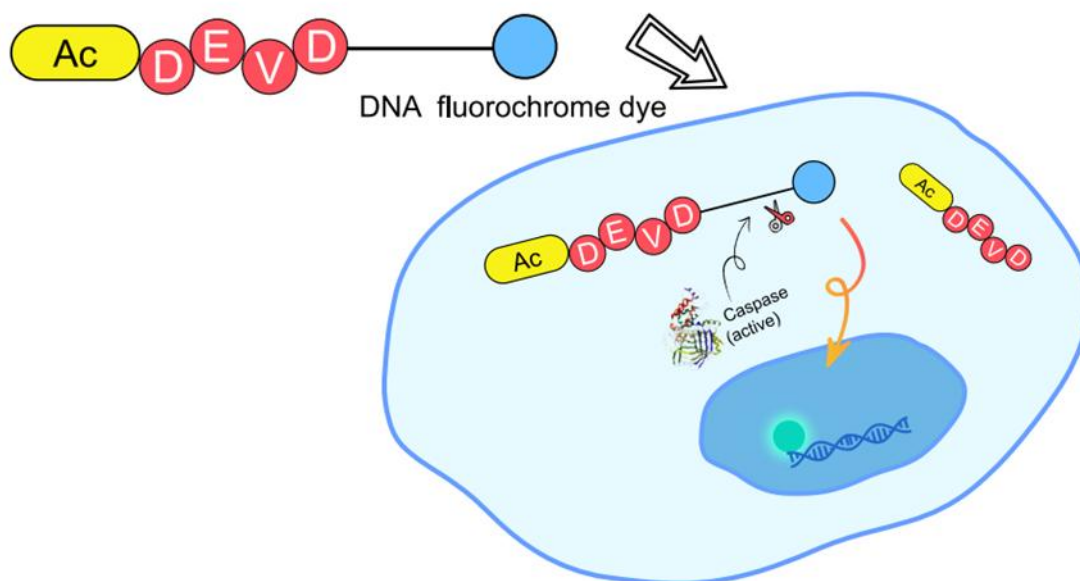
产品简介

Elabscience®自主研发的 Caspase 3/7 Substrates(Green)采用新型的具有细胞膜通透性的 Caspase-3/7 绿色荧光底物，可实时检测活细胞中 Caspase 3/7 酶的活性，且不会抑制细胞的凋亡进程。染色的细胞呈绿色荧光，可用流式细胞仪 FL1 或 FITC 检测通道检测，也可使用荧光显微镜 488nm 激发波长进行观测分析。染色后的细胞也可兼容后续的细胞固定和渗透，荧光强度和检测结果稳定。

本产品可根据需要和 Annexin V/PI/DAPI 及流式表型抗体进行共染分析。

检测原理

Caspase 3/7 Substrates(Green)采用 caspase-3/7 识别序列 (DEVD) 耦联到高亲和力的 DNA 荧光染料，具有细胞膜通透性，能够穿透质膜进入细胞质。底物本身无荧光，并和 DNA 具有电荷排斥效应，在细胞凋亡过程中，caspase 3/7 切割底物并释放高亲和力的 DNA 染料，与 DNA 结合后产生强荧光，从而检测 caspase 3/7 活性并可视化细胞凋亡过程中细胞核的形态变化。



For Research Use Only

Tel: 400-999-2100

Web: www.elabscience.cnEmail: techsupport@elabscience.cn

Rev. V1.2

实验操作

➤ 流式细胞仪检测

- (1) 收集细胞，250 g 离心 5 min，去上清，加入 1 mL PBS 缓冲液重悬细胞沉淀，250 g 离心 5 min，去上清。
- (2) 每组 $1\sim5\times 10^5$ 个细胞加入 200 μL PBS 缓冲液重悬细胞沉淀，加入 1 μL Caspase 3/7 Substrates (Green),轻轻吹打混匀，37°C避光孵育 20~30 min。
- (3) 孵育完成后，加入 1 mL PBS 缓冲液重悬细胞沉淀，250 g 离心 5 min，去上清。
- (4) 适当体积的 PBS 缓冲液重悬细胞沉淀，流式细胞仪检测。(Caspase 3/7 可用 FL1 或 FITC 检测通道。)

➤ 荧光显微镜检测

- (1) 小心吸除贴壁细胞的培养基，每孔加入适量 PBS 洗涤细胞，去除 PBS，重复洗涤 1 次，吸除 PBS。
- (2) 使用基础培养基，按照 96 孔板每孔 100 μL 或 24 孔板每孔 200 μL 的比例按照下表配制足量的 Caspase 3/7 染色工作液，轻轻吹打混匀。

组分	基础培养基	Caspase 3/7 Substrates(Green) (1 mM)
Caspase 3/7 染色工作液 (200 μL)	200 μL	1 μL
Caspase 3/7 染色工作液 (1 mL)	1000 μL	5 μL
Caspase 3/7 染色工作液 (2 mL)	2000 μL	10 μL

- (3) 贴壁缓慢加入 Caspase 3/7 染色工作液，轻轻晃动培养板，使染色液充分浸润细胞，37°C避光孵育 20-30 min。
注：若需要和 PI 或 DAPI 进行共染，可参考 Caspase 3/7 and DAPI Double Staining Kit (E-CK-A833) 和 Caspase 3/7 and PI Double Staining Kit (E-CK-A832)。
- (4) 孵育结束后，无需洗涤，可直接在荧光显微镜下观察染色效果。(Caspase 3/7 为绿色荧光，Ex/Em=490nm/535nm)
- (5) 若是悬浮细胞，则收集细胞沉淀后，按照 $1\sim5\times 10^5$ 个细胞加入 200 μL PBS 缓冲液重悬细胞沉淀，加入 1 μL Caspase 3/7 Substrates (Green),轻轻吹打混匀，37°C避光孵育 20-30 min，再加入 1 mL PBS 缓冲液，250g 离心 5 min，吸除部分上清，留取约 10~20 μL 终体积，轻轻吹打混匀细胞，吸取细胞悬液滴加在载玻片上，轻轻盖上盖玻片即可在显微镜下观察拍照。

注：该 Caspase 3/7 Substrates (Green)可兼容大多数不含醛基的 PH 中性的基础培养基，若部分细胞基础培养基成分较为特殊，导致染色后背景较高，可使用 PBS 配制染色液进行染色，并在染色后使用 PBS 浸洗 3 次后再观察拍照。

该 Caspase 3/7 Substrates (Green)的细胞毒性较低，可在加入凋亡诱导试剂后 1~3h 内同时加入 Caspase 3/7 Substrates (Green)，进行录像或者定时拍照，观测特定时间内的 caspase 3/7 酶活性的实时动态变化。

结果展示

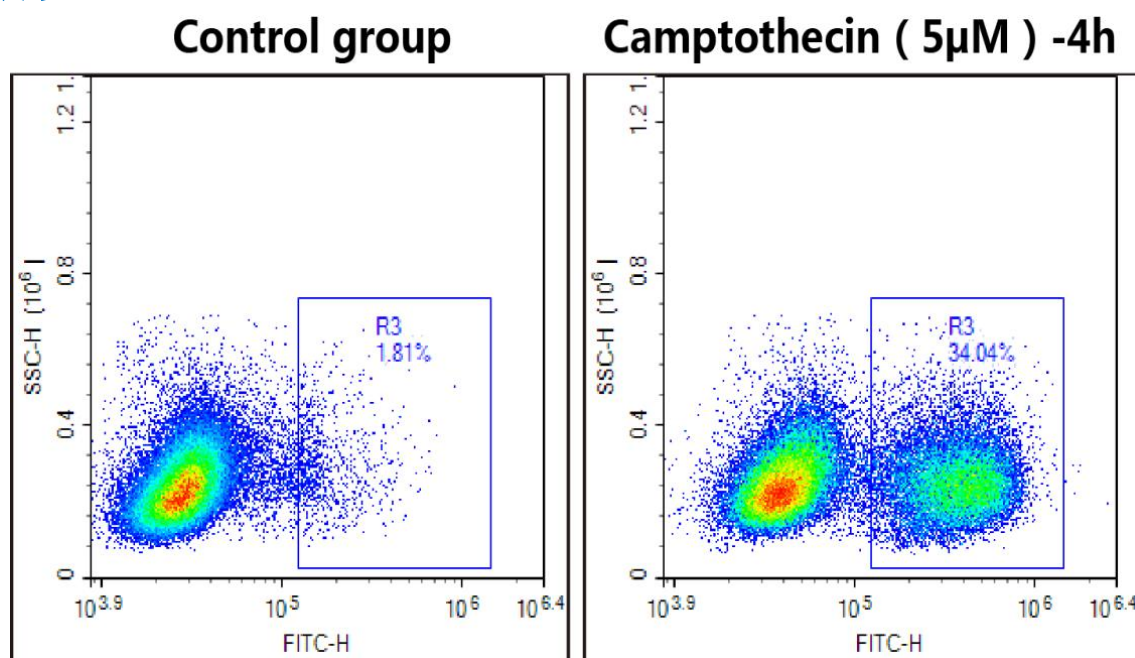


图 1: Molt-4 细胞用 5 μM 喜树碱 (Camptothecin) (右) 或未加药 (左) 处理 4 h, Caspase 3/7 Substrates (Green)染色后, 流式细胞仪荧光检测。

注意事项

1. 本产品仅限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。
2. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 细胞染色后可在室温下用 2-4% 多聚甲醛固定 15-30 min, 固定时间过久可能会导致背景信号增加。
4. 本产品未经活体组织染色验证, 可检测活细胞中的 caspase 3/7 酶活性, 不可用于固定后的细胞的检测。
5. 离心机升速和降速过高会引起细胞的损失, 建议调整升速不大于 3, 降速不大于 2, 即 $Acc \leq 3$, $Dec \leq 2$ 。