

Caspase 9 Activity Detection Substrate for Flow Cytometry

Cat. No: E-CK-A489

Size: 20 Tests/100 Tests

产品编号	组分名称	20 Tests	100 Tests	Storage
E-CK-A489	Caspase 9 Substrates(Green) (1mM)	20 μ L	100 μ L	-20°C, shading light
	说明书		一份	

保存条件

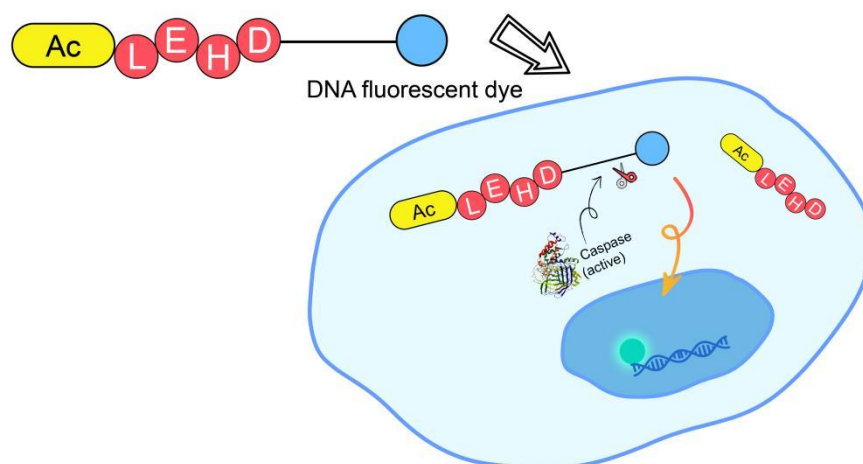
Caspase 9 Substrates(Green)(1mM)可在-20°C避光保存 1 年有效。

产品简介

Elabscience®自主研发的 Caspase 9 Substrates(Green)采用新型的具有细胞膜通透性的 Caspase-9 绿色荧光底物，可实时检测活细胞中 Caspase-9 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。

检测原理

Caspase 9 Substrates(Green)采用 caspase-9 识别序列(LEHD)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-9 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-9 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.cn

Email: techsupport@elabscience.cn

Rev. V1.0

检测样本类型

- ✓贴壁细胞
- ✓悬浮细胞

自备试剂耗材及仪器

- 试剂
75%乙醇, 细胞基础培养基, 无菌 PBS 缓冲液等。
- 仪器
水平离心机, CO₂ 培养箱, 荧光显微镜, 流式细胞仪, 生物安全柜等。
- 耗材
细胞培养皿, 移液器, 细胞爬片, 载玻片等。

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 $2-5 \times 10^5$ 个细胞加入 400 μ L PBS 缓冲液重悬细胞沉淀, 加入 0.4 μ L Caspase 9 Substrates(Green), 轻轻吹打混匀, 使 Caspase 9 Substrates(Green)的终浓度为 1 μ M, 37°C避光孵育 30 min。
- (3) 孵育完成后, 加入 1 mL PBS 缓冲液重悬细胞, 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 9 可用 FL1 或 FITC 检测通道。)

注: 孵育 Caspase 9 Substrates(Green)的 PBS 缓冲液不能含有血清或 BSA, 会导致非特异性背景增强; 若细胞中酶活性较低, 可适当增加 Caspase 9 Substrates(Green)(1 mM)的使用剂量, 使终浓度为 2-5 μ M。

➤ 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, 吸除 PBS。
- (2) 使用基础培养基或 PBS 缓冲液, 按照 96 孔板每孔 100 μ L 或 24 孔板每孔 200 μ L 的比例按照下表配制足量的 Caspase 9 染色工作液, 轻轻吹打混匀。

组分	基础培养基//PBS 缓冲液	Caspase 9 Substrates(Green) (1 mM)
Caspase 9 染色工作液 (200 μ L)	200 μ L	1 μ L
Caspase 9 染色工作液 (1 mL)	1000 μ L	5 μ L
Caspase 9 染色工作液 (2 mL)	2000 μ L	10 μ L

- (3) 贴壁缓慢加入 Caspase 9 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 30-60min。
- (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 9 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 $2-5 \times 10^5$ 个细胞加入 200 μ L PBS 缓冲液重悬细胞沉淀, 加入 1 μ L Caspase 9 Substrates(Green), 轻轻吹打混匀, 37°C避光孵育 30-60min, 再加入

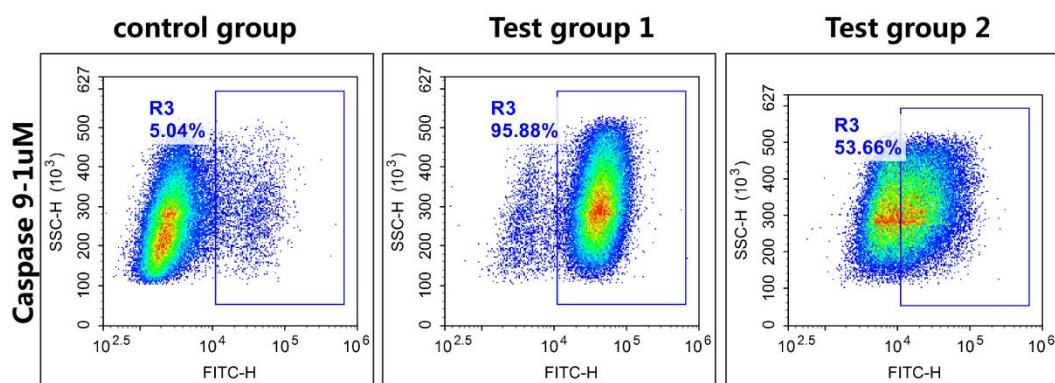
For Research Use Only

1 mL PBS 缓冲液, 250g 离心 5 min, 吸除部分上清, 留取约 10-20 μ L 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 9 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 9 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 9 Substrates(Green), 进行录像或者定时拍照, 观测特定时间内的 Caspase 9 酶活性的实时动态变化。

结果展示



control group: Jurkat cells were cultured without drug administration;

Test group 1: Jurkat cells were cultured with 1 μ M Staurosporine for 3h;

Test group 2: Jurkat cells were pretreated with 100 μ M Z-VAD-FMK for 1h, and then cultured with 1 μ M Staurosporine for 3h;

图 1: Jurkat 细胞用 Caspase 9 Substrates(Green)染色后, 流式细胞仪检测分析。

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. Caspase 9 Substrates(Green)(1mM)建议分装后密封避光保存, 尽量在 6 个月内使用完毕, 避免反复冻融。
4. 本产品未经活体组织染色验证, 可检测活细胞中的 caspase 9 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 $Acc \leq 3$, $Dec \leq 2$ 。