



SuperView 488 Caspase-3 底物

产品货号: C0488-100 μL , 1 mM in DMSO

储存条件: -20°C 避光干燥保存, 有效期见外包装。

产品介绍

SuperView 488 Caspase-3 Substrate 基于 caspase-3/7 活力检测细胞凋亡提供了有效的工具, 适用于荧光显微术和流式细胞术。相比其他基于 (FLICA) 分析的 caspase 的荧光底物或荧光抑制剂, SuperView 488 Caspase-3 Substrate 检测 caspase-3/7 活性的同时不会抑制完整细胞的凋亡过程。Substrate 由耦合 caspase-3/7 DEVD 识别序列的荧光 DNA 染料组成。Substrate 最初无荧光, 穿过细胞膜进入细胞质。在凋亡细胞中, caspase-3/7 剪切 Substrate, 释放高亲和性的 DNA 染色, 这种染料迁移到细胞核标记 DNA 并发出明亮的绿色荧光。因此 SuperView 488 Caspase-3 Substrate 是双功能的, 既可以检测 caspase-3/7 活性, 又可可视化细胞核在细胞凋亡进行中的形态学变化。SuperView 488 染色可以甲醛固定并兼容后续免疫染色实验。SuperView 488 Caspase-3 Substrate 提供 DMSO 和 PBS 两种溶解形式。PBS 形式可用于对 DMSO 毒性敏感的细胞, 在对 DMSO 不敏感的细胞类型中, 添加 DMSO 溶解形式可增强 SuperView 488 的孵育染色效果。

光谱特性

SuperView 488: Ex/Em = 500/530 nm (with DNA)

使用方法

1. 实验优化

下面提供的实验步骤根据终点法检测制度。SuperView 488 Substrate 也可以进行细胞长时间孵育研究。细胞密度、底物浓度和抑制剂浓度可能需要优化。最佳底物浓度可能在 1-10 μM 之间。细胞可以在培养基、PBS 或其他您所选择的缓冲液中孵育底物。对于贴壁细胞, 我们建议更换新鲜含有底物的培养基, 以防背景的不均一性。底物孵育后换液或洗涤细胞的操作是自由选择的。

2. 对照

我们建议您设定以下对照:

- A. 阴性对照: 不诱导凋亡的细胞
- B. 阳性对照: 诱导凋亡的细胞

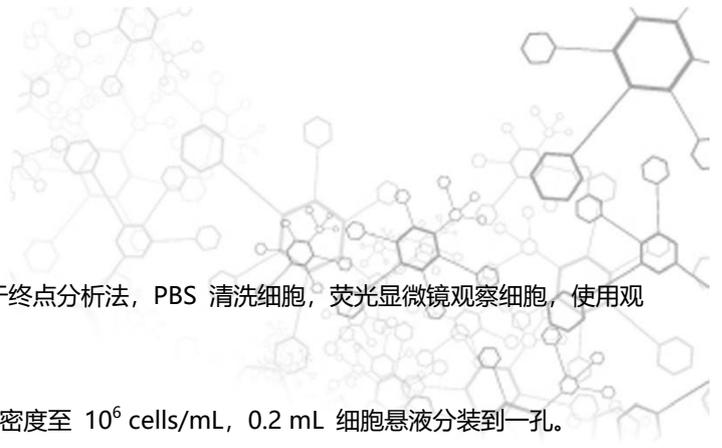
3. 流式细胞术

- (1) 选择合适的方法诱导细胞凋亡, 未经处理的细胞样本作为对照。
- (2) 贴壁细胞, 进行 SuperView 488 Caspase-3 实验前先用胰蛋白酶或其他方法消化细胞。
- (3) 用培养基或缓冲液重悬细胞, 使细胞密度为 $10^6/\text{mL}$ 。
- (4) 吸取 0.2mL 细胞悬液至流式细胞试管。
- (5) 往 200 μL 细胞悬液中加入 1 μL 1 mM 的 Substrate 并立即混匀使底物浓度为 5 μM 。不同细胞的最佳底物浓度可能不同, 需分析优化。
- (6) 室温避光孵育细胞 15-30 min。
- (7) 加入 300 μL 培养基或 PBS, 流式细胞仪分析。检测绿色荧光的通道 (激发/发射: 485/515 nm) 。

4. 荧光显微镜

- (1) 选择合适的方法诱导细胞凋亡, 未经处理的细胞样本作为对照。
- (2) 用含有 5 μM Substrate 的新鲜培养基或 PBS 对细胞进行换液 (见试验优化) 。





(3) 室温下孵育细胞 30 min 或更长时间。

(4) 细胞可以在含有 Substrate 的培养基中直接观察。对于终点分析法, PBS 清洗细胞, 荧光显微镜观察细胞, 使用观察绿色荧光的滤片 (激发/发射: 485/515 nm) 。

5. 荧光酶标仪

(1) 贴壁细胞在黑色 96 孔板中进行培养; 悬浮细胞, 调整密度至 10^6 cells/mL, 0.2 mL 细胞悬液分装到一孔。

(2) 选择合适的方法诱导细胞凋亡, 未经处理的细胞样本作为对照。注意: 细胞可以在管或瓶中处理, 然后转移到 96 孔检测板。

(3) 对于悬浮细胞, 直接添加 Substrate 混匀。对于贴壁细胞, 用含有 $5\mu\text{M}$ Substrate 的新鲜培养基或 PBS 对细胞进行换液 (见试验优化) 。

(4) 室温避光孵育细胞 15-30 min。

(5) 对于悬浮细胞, 轻轻摇晃重悬细胞。荧光酶标仪设置激发波长 488 nm 和发射波长 520 nm。建议贴壁细胞使用底部采集方式。贴壁细胞密度的变化可能导致不准确的读数。

注意事项

1. 细胞可以用终浓度为 $1\mu\text{M}$ 的 Hoechst 33342 染料共同染色, 使细胞核产生蓝色荧光染色 (激发/发射: 346/460 nm) 。

2. SuperView 488 染色可以被甲醛固定, 但与甲醇固定不兼容。

3. 甲醛固定的 SuperView 488 染色细胞可以用 0.1% Triton X-100 处理后进行后续染色, 但这样处理后的染色的亮度可能会减弱。

