

Ready-to-use CaspTrace™488 Caspase-3/7 底物 (1 mM in DMSO)

1 产品基本信息

产品名称（中文）：Ready-to-use CaspTrace™488 Caspase-3/7 底物 (1 mM in DMSO)

产品名称（英文）：Ready-to-use CaspTrace™488 Caspase-3/7 Substrate (1 mM in DMSO)

产品编号：MX1417

2 规格或纯度

125 μL

3 产品介绍

产品简介

CaspTrace™488 Caspase-3/7 底物基于 caspase-3/7 活力检测细胞凋亡提供有效工具，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 荧光底物或荧光抑制剂，其检测 caspase-3/7 活性时不会抑制完整细胞的凋亡过程。

底物由耦合 caspase-3/7 DEVD 识别序列的荧光 DNA 染料组成，最初无荧光，可穿过细胞膜进入细胞质；在凋亡细胞中，caspase-3/7 剪切底物，释放高亲和性的 DNA 染色，该染料迁移到细胞核标记 DNA 并发出明亮绿色荧光。因此，该底物具有双功能，既可检测 caspase-3/7 活性，又能可视化细胞凋亡过程中细胞核的形态学变化，且其染色可经甲醛固定，兼容后续免疫染色实验。

CaspTrace™488 Caspase-3/7 底物提供 DMSO 和 PBS 两种溶解形式：PBS 形式可用于对 DMSO 毒性敏感的细胞，对 DMSO 不敏感的细胞类型中，添加 DMSO 溶解形式可增强孵育染色效果。

产品特点

- 稳定性好：荧光亮度高且抗淬灭性好
- 批间差小：批间差控制良好

适用范围：

细胞凋亡检测

4 储存与运输

储存条件：-20°C避光干燥保存；

运输条件：冰袋运输。

5 使用方法（仅供参考）

本实验步骤基于终点法检测，CaspTrace™488 Caspase-3/7 底物也可用于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优化，最佳底物浓度可能在 1~10 μM 之间，细胞可在培养基、PBS 或其他所选缓冲液中孵育底物；对于贴壁细胞，建议更换新鲜含底物的培养基以防背景不均一，底物孵育后换液或洗涤细胞可自由选择。

(1) 对照

建议设定以下对照：

- 阴性对照：不诱导凋亡的细胞；
- 阳性对照：诱导凋亡的细胞；
- 抑制剂对照：诱导细胞凋亡同时（或提前 10~30 min）孵育 Caspase-3/7 抑制剂，最后添加 CaspTrace™488 Caspase-3/7 底物；

(2) Ac-DEVD-CHO Caspase-3 抑制剂对照

试剂盒中的 Caspase-3/7 抑制剂 Ac-DEVD-CHO 可用于确认 Caspase-3/7 依赖于 CaspTrace™488 的荧光信号；抑制剂终浓度应至少是底物浓度的 2 倍；添加底物前在室温下孵育 Ac-DEVD-CHO 15~30 min，加入底物后，孵育液中继续保留抑制剂。Ac-DEVD-CHO 是可逆的竞争性抑制剂，某些细胞类型中，有效的 Caspase-3/7 抑制剂需使用不可逆抑制剂（如 Z-DEVD-FMK），或需在凋亡诱导之前或诱导过程中添加抑制剂。

(3) 流式细胞术

- a. 选择合适方法诱导细胞凋亡，以未经处理的细胞样本作为对照；
- b. 贴壁细胞需先用胰蛋白酶或其他方法消化细胞，再执行 CaspTrace™488 Caspase-3/7 实验
- c. 用缓冲液重悬细胞，使细胞密度为 10^6 个 /mL；
- d. 取 0.2 mL 细胞悬液至流式细胞试管；
- e. 对照样本用 Ac-DEVD-CHO 处理细胞（见上文（2）Ac-DEVD-CHO Caspase-3 抑制剂对照）；
- f. 200 μ L 细胞悬液中加入 5 μ L 0.2 mM 的底物并立即混匀，使底物浓度为 5 μ M；不同细胞的最佳底物浓度可能不同，需分析优化；
- g. 室温避光孵育细胞 15~30 min；
- h. 加入 300 μ L 培养基或 PBS，用流式细胞仪分析，检测绿色荧光的通道（Ex/Em:485/515 nm）。

(4) 荧光显微镜

- a. 选择合适方法诱导细胞凋亡，以未经处理的细胞样本作为对照；
- b. 抑制剂对照样本用 Ac-DEVD-CHO 处理细胞（见上文（2）Ac-DEVD-CHO Caspase-3 抑制剂对照）；
- c. 用含有 5 μ M 底物的新鲜培养基或 PBS 对细胞换液（见上文 1. 实验优化）；抑制剂对照组中，抑制剂与底物一同孵育；
- d. 室温下孵育细胞 30 min 或更长时间；
- e. 细胞可在含有底物的培养基中直接观察；对于终点分析法，用 PBS 清洗细胞，用荧光显微镜观察，使用观察绿色荧光的滤片（Ex/Em:485/515 nm）。

(5) 荧光酶标仪

- a. 贴壁细胞生长在黑色 96 孔板中；悬浮细胞调整密度至 10^6 个 /mL，取 0.2 mL 细胞悬液分装到一孔；
- b. 选择合适方法诱导细胞凋亡，以未经处理的细胞样本作为对照（注：细胞可在管或瓶中处理，再转移到 96 孔检测板）；
- c. 抑制剂对照样本用 Ac-DEVD-CHO 处理细胞；
- d. 悬浮细胞直接添加底物混匀；贴壁细胞用含有 5 μ M 底物的新鲜培养基或 PBS 换液；抑制剂对照组中，抑制剂与底物一同孵育；
- e. 细胞可在含有底物的培养基中直接观察；
- f. 悬浮细胞轻轻摇晃重悬；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；贴壁细胞密度变化可能导致读数不准确。

6 常见问题 (FAQ)

Q1: 产品稳定性如何？

答：该物质稳定性很好，用户反馈 37°C 放置 4~5 天，效果仍良好。

Q2: 何时加入细胞中？

答：实验前期、后期加入细胞均可，不影响细胞凋亡进程，可实时监测 caspase-3 活性。

Q3: 可用于组织染色吗？

答：本公司未进行活组织染色实验，有文献报道可用于胚胎组织或三维培养细胞。

Q4: 可用于随后的免疫染色吗？

答：可以。推荐使用 2~4% 的多聚甲醛室温固定 10~15 min，固定时间过长会导致信号下降。

Q5: 特异性如何？

答：与其它 caspase-3 底物相似，CaspTrace™488 底物基于能被 Caspase-7 切割的 DEVD caspase-3 共同序列，其它半胱天冬酶也可能因与底物特异性序列重叠而切割 DEVD 底物。

Q6: 适用于哪些细胞？

答: SuperView™ Caspase-3 底物已被报道用于多种原代细胞和科研文献中的永生化细胞中。

7 注意事项

- 使用前请将产品瞬时离心至管底，再进行后续实验；
- 细胞可用终浓度为 1 μM 的 Hoechst 33342 染料共同染色，使细胞核产生蓝色荧光染色 (Ex/Em:346/460 nm)；
- SuperView™ 488 染色可以被甲醛固定，但与甲醇固定不兼容；
- 甲醛固定的 SuperView™ 488 染色细胞可用 0.1% TritonX-100 处理后进行后续染色，但处理后染色亮度可能会减弱；
- 荧光染料均存在淬灭问题，请尽量注意避光，以减缓荧光淬灭；
- 本产品仅限于科研，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；
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。