

产品目录号：
G6410
G6411

ApoLive-Glo™ 二重检测简明操作步骤



注意：这是节选操作步骤，详细英文说明书见 <http://www.promega.com/tbs/tm325/tm325.pdf> 本简明操作步骤电子版见 www.promega.com.cn

准备试剂

- 按以下方法融解各组分：检测缓冲液：37°C水浴；
GF-AFC 底物：37°C水浴；

Caspase-Glo® 3/7 缓冲液：室温；

Caspase-Glo® 3/7 底物：室温。

- 将 GF-AFC 底物转移入检测缓冲液
若用 96 孔板，将 10ul 底物转入 2ml 检测缓冲液。
若用 384 孔板，将 10ul 底物转入 2.5ml 检测缓冲液。
将含有底物的检测缓冲液震荡均匀，直到底物完全溶解。这个混合物将被称为**活力试剂**。

- 将一瓶 Caspase-Glo® 3/7 缓冲液转入一瓶装有
Caspase-Glo® 3/7 底物的棕色瓶中。涡旋或颠倒混
匀，直到底物完全溶解，形成 Caspase-Glo® 3/7 试
剂（~20 秒）。

注意：参考技术手册 #T325 关于配好的
Caspase-Glo® 3/7 试剂的储存方法：

<http://www.promega.com/tbs/tm325/tm325.pdf>

96 孔板操作过程举例

- 在 96 孔检测板上准备好带培养基的一定密度的细
胞。
注意：我们建议每孔<20,000 个细胞。
- 在一定的孔中加入测试化合物和溶剂对照,使每孔
终体积为 100ul。
- 按需要时间段培养细胞。
- 向所有孔中加入 20ul **活力试剂**, 在摇板机上短暂振
荡均匀 (300-500rpm, ~30 秒)。

- 37°C 孵育 30 分钟。

注意：孵育时间长于 30 分钟可能有利于检测灵敏度和
线性范围。不过，不要超过 3 小时。

- 按下列波长测量荧光：400_{Ex}/505_{Em}

- 向所有孔中加入 100ul Caspase-Glo® 3/7 试剂，在摇板
机上短暂振荡 (300-500rpm, ~30 秒)。

- 在 18-22°C 孵育 30 分钟。

注意：孵育时间长于 30 分钟可能有利于检测灵敏度和
线性范围。

- 测量生物发光值。

384 孔板操作过程举例

- 在 384 孔检测板上准备好带培养基的一定密度的细胞。
注意：我们建议每孔<5,000 个细胞。
- 在一定的孔中加入测试化合物和溶剂对照,使每孔终体
积为 20ul。
- 按需要时间段培养细胞。
- 向所有孔中加入 5ul **活力试剂**, 在摇板机上短暂振荡均
匀 (1,300-1,500rpm, ~30 秒)。

- 37°C 孵育 30 分钟。

注意：孵育时间长于 30 分钟可能有利于检测灵敏度和
线性范围。不过，不要超过 3 小时。

- 按下列波长测量荧光：400_{Ex}/505_{Em}

- 向所有孔中加入 25ul Caspase-Glo® 3/7 试剂，在摇板机
上短暂振荡 (1,300-1,500rpm, ~30 秒)。

- 在 18-22°C 孵育 30 分钟。

注意：孵育时间长于 30 分钟可能有利于检测灵敏度和
线性范围。

- 测量生物发光值。

详细英文说明书见
<http://www.promega.com/tbs/tm325/tm325.pdf>