

PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits

15 min 一步活细胞同步动态监测 Caspase/PS/坏死/健康状态, 免裂解荧光亮度 + 50%

产品货号: C21203, C21204, C21205, C21206

产品规格: 10 T, 50 T, 100 T

储运条件: 4 °C避光保存, 冰袋运输

产品简介:

PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits 通过整合 NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate、BFT™ 标记的Annexin V、EthD Gold及Hoechst 33342, 构建了集约简便的活细胞凋亡多参数同步检测方案。其核心机制在于:

- (1) NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate作为非荧光膜渗透性底物, 被凋亡细胞内激活的Caspase-3/7 特异性剪切后, 释放高亲和性DNA染料并发出绿色荧光, 同步实现酶活性监测与核形态变化分析;
- (2) BFT™ 647 Annexin V则通过结合外翻的磷脂酰丝氨酸(PS)标记凋亡细胞;
- (3) EthD Gold可穿透破损细胞膜标记凋亡晚期和坏死细胞;
- (4) 借助Hoechst 33342 蓝色染料的全细胞穿透性, 对所有细胞的细胞核进行普遍性染色, 作为细胞计数与定量校正的稳定内参。

相较于传统检测方法如DEVD-R110 荧光底物需裂解细胞, 无法用于活细胞检测且仅反映群体平均活性, FLICA试剂作为不可逆抑制剂会干扰酶功能并限制实时监测。本试剂盒优势显著: 通过活细胞一步染色设计, 结合荧光亮度提升 50% 的优化方案, 显著增强检测灵敏度, 无需裂解细胞, 可对单细胞进行动态追踪; 一次染色同步区分健康细胞、凋亡早期细胞、凋亡晚期细胞及坏死细胞, 实现“四态”同步鉴别; 兼容多通道检测; 操作流程简化, 从染色到检测仅需 15 min。本试剂盒适用于流式细胞术、荧光显微镜或其它荧光检测系统进行检测, 为研究提供了灵活选择, 突破了传统终点检测的局限。能在单细胞水平同步量化Caspase-3/7 活性、PS外翻、坏死及健康状态, 精准解析凋亡异质性, 尤其可识别Caspase-3/7 高活性但PS未外翻的早期凋亡亚群。

细胞凋亡的调控失衡与神经退行性疾病(如阿尔茨海默病中神经元的过度凋亡)、心肌梗死(缺血导致心肌细胞凋亡)等病理过程密切相关。该试剂盒的核心价值在于揭示肿瘤或药物处理后细胞群体的差异化响应机制, 为药物开发(如评估化合物凋亡动力学及毒性)和疾病机制研究(如肿瘤异质性、神经退行性疾病模型)提供精准工具。通过单细胞分辨率同步解析Caspase-3/7 活性爆发、PS外翻时序及坏死事件, 不仅深化了对凋亡分子网络的理解, 也为靶向治疗策略的制定提供了关键数据支持。

注: 效能等同Biotium NucView® 488 and CF® 640R Annexin V Dual Apoptosis Assay Kit for Live Cells(#30073);

NucView®、CF® 640R均是Biotium的商标及注册商标。

应用范围: 贴壁细胞或悬浮细胞中细胞凋亡、坏死及健康多维度状态监测; 活细胞动态追踪凋亡进程、区分死亡模式; 药物开发、疾病机制研究; 识别凋亡亚群(如 Caspase-3/7 高活性但 PS 未外翻的早期凋亡细胞), 解析肿瘤/药物处理后的细胞异质性响应。

产品特点:

- **活细胞免裂解检测:** 活细胞适用, 无需细胞裂解步骤;
- **单细胞多维度分析:** 提供单个细胞的 Caspase-3/7 活性、PS 外翻、坏死及健康状态;
- **实时动态追踪:** 实时捕捉 Caspase-3/7 活性全程, 可逆底物不抑制酶活;
- **染料特异性高:** 杜绝假阳性, EthD Gold 仅膜严重破损时进入, 排除传统 PI “瞬时渗漏”造成的坏死误判, 背景干净;
- **快速可视化核形态:** 15 min 一步染色, 直观地观察到凋亡细胞核的形态变化。



产品参数:

- NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate Ex/Em: 500/530 nm
- BF™ 647-Annexin V Ex/Em: 650/665 nm
- BF™ 594-Annexin V Ex/Em: 590/617 nm
- Hoechst 33342 Ex/Em: 350/461 nm (with DNA)
- EthD Gold Ex/Em: 532/625 nm (with DNA)

产品组分:

PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits (NucTrack™ 488 Caspase-3/7, BF™ 647-Annexin V, Hoechst 33342)(C21203)			
规格 组分	10 T	50 T	100 T
A. NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate	50 µL	250 µL	500 µL
B. BF™ 647-Annexin V	50 µL	250 µL	500 µL
C. 1× Annexin V Binding Buffer	8 mL	2×50 mL	3×50 mL
D. Caspase-3/7 Inhibitor	10 µL	50 µL	100 µL
E. Hoechst 33342	10 µL	50 µL	100 µL

PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits (NucTrack™ 488 Caspase-3/7, BF™ 594-Annexin V, Hoechst 33342)(C21204)			
规格 组分	10 T	50 T	100 T
A. NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate	50 µL	250 µL	500 µL
B. BF™ 594-Annexin V	50 µL	250 µL	500 µL
C. 1× Annexin V Binding Buffer	8 mL	2×50 mL	3×50 mL
D. Caspase-3/7 Inhibitor	10 µL	50 µL	100 µL
E. Hoechst 33342	10 µL	50 µL	100 µL

PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits (NucTrack™ 488 Caspase-3/7, BF™ 647-Annexin V, EthD Gold)(C21205)			
规格 组分	10 T	50 T	100 T
A. NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate	50 µL	250 µL	500 µL
B. BF™ 647-Annexin V	50 µL	250 µL	500 µL
C. 1× Annexin V Binding Buffer	8 mL	2×50 mL	3×50 mL
D. Caspase-3/7 Inhibitor	10 µL	50 µL	100 µL
E. EthD Gold	10 µL	50 µL	100 µL



PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits (NucTrack™488 Caspase-3/7, BF™647-Annexin V, EthD Gold, Hoechst 33342)(C21206)				
组分	规格	10 T	50 T	100 T
A. NucTrack™488 Caspase-3/7 Substrate		50 µL	250 µL	500 µL
B. BF™647-Annexin V		50 µL	250 µL	500 µL
C. 1× Annexin V Binding Buffer		8 mL	2×50 mL	4×50 mL
D. Caspase-3/7 Inhibitor		10 µL	50 µL	100 µL
E. Hoechst 33342		10 µL	50 µL	100 µL
F. EthD Gold		10 µL	50 µL	100 µL

注：100 T 试剂盒使用次数为进行 96 孔板荧光显微镜检测时可检测的微孔总数。

注意事项：

- 使用贴壁细胞进行实验时，使用胰酶进行消化后的细胞，必须使用含有血清的培养基中和并去除胰酶，否则胰酶将会降解Annexin V，导致染色失败。
- 本实验中不建议使用甲醛固定细胞，Annexin V依赖于正常细胞中的完整细胞膜进行染色。若需固定需添加氯化钙。
- 建议在实验中设置单染色的对照组，流式检测中用于调节补偿。
- 本产品仅限于科研用途并且不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请遵循您所在常规实验室安全规定。

使用说明：（以 C21206 为例）

一、实验前准备

1. 试剂准备：

- 将试剂盒各组分恢复至室温，准备足量PBS缓冲液。

2. 仪器准备：

- 荧光显微镜：激发/发射波长：Ex/Em：500/530 nm、Ex/Em：650/665 nm、Ex/Em：350/461 nm、Ex/Em：532/625 nm；
- 流式细胞仪：激发/发射波长：Ex/Em：500/530 nm、Ex/Em：650/665 nm、Ex/Em：350/461 nm、Ex/Em：532/625 nm。

3. 对照组设置：

组别	NucTrack™488 Caspase-3/7 Substrate	BF™ 647-Annexin V	Hoechst 33342	EthD Gold	Caspase-3/7 Inhibitor	样品细胞
阴性对照	+	+	+	+	-	不做任何处理
单阳对照	+	-	-	-	-	明显凋亡
单阳对照	-	+	-	-	-	明显凋亡
单阳对照	-	-	+	-	-	明显凋亡
单阳对照	-	-	-	+	-	明显凋亡
抑制对照	+	+	+	+	+	明显凋亡



实验组	+	+	+	+	-	实验组细胞
-----	---	---	---	---	---	-------

- 阴性对照组：排除染料的非特异性结合，验证染色的特异性。
- 单阳对照组：排除荧光串扰，校准信号强度参数、流式检测中调节补偿。
- 抑制对照组：验证NucTrack™ 488荧光信号对Caspase-3/7的依赖性。

二、操作步骤

方案一：荧光显微镜检测（适用于悬浮细胞）

1. 细胞处理：

- （1）按照所需的实验设计诱导细胞凋亡。
- （2）抑制对照处理：凋亡诱导前 10~15min 加入 1 μ L 组分 D (Caspase-3/7 Inhibitor)，再加凋亡诱导剂。

注：抑制剂按照悬浮细胞数量约 1.5×10^5 个细胞使用量为 1 μ L 的比例按实际细胞数量进行添加。

2. 收集与洗涤细胞：

- （1）收集待测悬浮细胞悬液至离心管中。
- （2）1000 rpm，室温离心 5 min，小心吸弃上清液。

3. 细胞重悬与计数：

- （1）使用 PBS 重悬并细胞计数。
- （2）取 $5 \times 10^4 \sim 10^5$ 个细胞，1000 rpm 低速离心 5 min，去除 PBS。
- （3）使用 100 μ L 组分 C (1 $\times$ Annexin V Binding Buffer) 重悬。1000 rpm 低速离心 5 min，去除上清。

注：显微镜法对细胞密度要求不严格，只要实验组与对照组密度一致即可。具体可根据样本种类与实验条件灵活调整，以显微镜下视野中细胞分布清晰可辨为宜。

4. 细胞染色：

- （1）取 100 μ L 组分 C 重悬细胞，加入 5 μ L 组分 A (NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate)，加入 5 μ L 组分 B (BFT™ 647 Annexin V)，加入 1 μ L 组分 E (Hoechst 33342)，加入 1 μ L 组分 F (EthD Gold)，轻轻吹打混匀。
- （2）室温避光孵育 15~30 min（孵育时间可根据预实验结果优化）。

注：各染料的使用量可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整，但组分 A 和组分 D 的使用量保持体积比 5 : 1。

5. 洗涤与重悬：

- （1）孵育结束后，1000 rpm，室温离心 5 min，收集细胞。
- （2）小心吸弃含染料的上清液（此为废液，需妥善处理）。
- （3）加入 100 μ L 组分 C 轻柔重悬细胞，进行洗涤，吸净上清液。
- （4）加入 100 μ L 组分 C 轻柔重悬细胞，制成待测样品。

注：若不及时检测，可将离心管暂时放置于冰上。

6. 显微镜观察与拍照：

- （1）96孔板法：将 100 μ L 细胞悬液加入 96 孔板中，静置片刻，待细胞自然沉降贴底后，置于荧光显微镜下观察。

注：细胞悬液使用量可以根据细胞计数的数量自行调整，显微镜视野中细胞分布 70%~80% 为最佳。

- （2）载玻片法：取 20~30 μ L 细胞悬液滴加于洁净载玻片上，轻轻盖上盖玻片，避免产生气泡，置于荧光显微镜下观察。
- （3）分别在预设的滤光片条件下，寻找并分别拍摄。

NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate 检测信号：选用 FITC 通道(Ex/Em: 490/525 nm)或相应滤光片；

BFT™ 647 Annexin V 检测信号：选用 APC 通道(Ex/Em: 650/665 nm)或相应滤光片；

Hoechst 33342 检测信号：选用 DAPI 通道(Ex/Em: 350/461 nm)或相应滤光片；

EthD Gold 检测信号：选用 PE 通道(Ex/Em: 532/625 nm)或相应滤光片。

方案二：荧光显微镜检测（适用于贴壁细胞）

1. 抑制对照处理：

- （1）提前一天在孔板中接种细胞，使得细胞汇合度达到 70%~85%，待细胞贴壁后按照实验设计处理细胞。
- （2）凋亡诱导前 10~15 min，加入 1 μ L 组分 D (Caspase-3/7 Inhibitor)，再加凋亡诱导剂。

注：抑制剂按照悬浮细胞数量约 1.5×10^5 个细胞使用量为 1 μ L 的比例按实际细胞数量进行添加。

2. 细胞清洗：



(1) 直接在培养板中吸弃细胞培养液，PBS清洗一次。

(2) 根据培养板规格，加入对应体积的组分C轻柔洗涤细胞一次（例如：96孔板加100 μL /孔，48孔板加150 μL /孔，24孔板加250 μL /孔，12孔板加500 μL /孔，6孔板加1 mL/孔）。洗涤后吸净组分C。

3. 制备染色工作液：

(1) 按照每100 μL 中分别添加组分A 5 μL 、组分B 5 μL 、组分E 1 μL 和组分F 1 μL 的使用量将染料加入到组分C中，混匀备用。

注：各染料的使用量可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整，但组分A和组分D的使用量保持体积比5:1。

4. 细胞染色：

(1) 向各孔中加入对应体积的染色工作液（体积同步步骤1，例如：96孔板加100 μL /孔，48孔板加150 μL /孔，24孔板加250 μL /孔，12孔板加500 μL /孔，6孔板加1 mL/孔）。

(2) 室温避光孵育15~30 min（孵育时间可根据预实验结果优化）。

5. 洗涤：

(1) 孵育结束后，吸弃各孔中的染色工作液。

(2) 按步骤2的体积，加入组分C洗涤细胞。

6. 显微镜观察与拍照：

(1) 洗涤后，每孔加入对应体积的组分C，以保持细胞湿润。

(2) 直接将培养板置于荧光显微镜下观察和拍照。滤光片设置同方案一。

方案三：流式细胞仪检测（适用于悬浮与贴壁细胞）

1. 收集与制备单细胞悬液：

● 悬浮细胞：同方案一，最终取 $5 \times 10^5 \sim 10^6$ 个细胞。

● 贴壁细胞：

a. 将细胞培养基吸出至适合的离心管内备用。贴壁细胞用少量PBS清洗一遍，清洗后的PBS吸出后同样转移到盛装培养基的离心管内，1000 rpm，室温离心5 min。

b. 加入适量不含EDTA的胰酶消化液消化细胞。

注：胰酶使用量、消化时间、消化温度根据各自实验室的经验操作。

c. 关键：加入a步骤离心管内备用的细胞培养基，终止消化。

d. 将细胞悬液转移至合适的离心管，1000 rpm，室温离心5 min，吸弃上清。

e. 收集a步骤与d步骤中的细胞。

f. 用PBS重悬细胞并进行细胞计数。

g. 取 $5 \times 10^4 \sim 10^5$ 个细胞，1000 rpm，室温离心5 min，吸弃上清。

h. 100 μL 组分C清洗细胞，1000 rpm，室温离心5 min，吸弃上清。

注：胰酶消化步骤对于贴壁细胞很关键。消化时间过短，细胞需要用力吹打才能脱落容易造成机械损伤，导致细胞凋亡的假阳性；消化时间过长，同样会造成细胞凋亡的假阳性，影响细胞膜上PS与Annexin V的结合干扰细胞凋亡的检测。

2. 细胞染色：

(1) 用100 μL 组分C重悬细胞。

(2) 加入5 μL 组分A (NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate)，加入5 μL 组分B (BF™ 647-Annexin V)，加入1 μL 组分E (Hoechst 33342)，加入1 μL 组分F (EthD Gold)，轻轻吹打混匀。

(3) 室温避光孵育15~30 min（孵育时间可根据预实验结果优化）。

注：各染料的使用量可以根据不同的细胞种类、预实验或实验条件设置的使用量进行调整，但组分A和组分D的使用量保持体积比5:1。

3. 洗涤与重悬：

(1) 孵育结束后，1000 rpm，室温离心5 min，收集细胞。

(2) 吸弃上清液，加入100 μL 组分C轻柔重悬，进行洗涤。

(3) 再次离心，彻底吸弃上清液。

(4) 加入500 μL 组分C轻柔重悬细胞，制成流式上机样品。

注：将待测样品置于冰上。

4. 上机检测：



仅限体外科研用途 不得用于临床诊断或治疗
技术咨询 Contact@probelives.com
订购咨询 Sales@probelives.com

中文网址 www.probelives.cn
英文网址 www.probelives.com
Suzhou Probelives Technology CO., LTD.

- (1) 重要：染色完成后1 h内进行流式检测，以保证荧光信号稳定。
- (2) 用流式细胞仪在预设的检测通道下进行分析。
- (3) 首先通过空白对照（未染色细胞）调节电压，使细胞群位于坐标系左下角。
- (4) 然后检测阴性对照和阳性对照，确认实验体系成立。
- (5) 最后检测实验样品，记录并分析细胞的平均荧光强度。

NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate 检测信号：选用 FITC 通道(Ex/Em：490/525 nm)；

BF™ 647-Annexin V 检测信号：选用 APC 通道(Ex/Em：650/665 nm)；

Hoechst 33342 检测信号：选用 DAPI 通道(Ex/Em：350/461 nm)；

EthD Gold 检测信号：选用 PE 通道(Ex/Em：532/625 nm)。

三、结果判读：（以 C21206 为例）

1.定性分析（显微镜）：

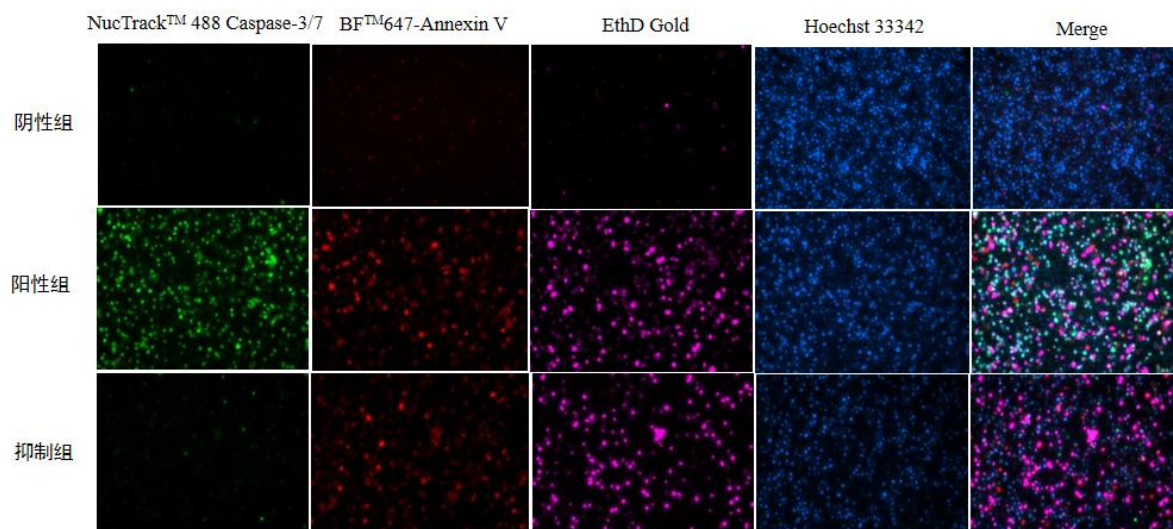


图 1.PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits（以 C21206 为例）荧光镜检拍照

- (1) 阴性组：K562正常细胞，进行NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate、BF™ 647-Annexin V、EthD Gold、Hoechst 33342同时共染后合成画Merge；
- (2) 阳性组：诱导凋亡处理后的K562细胞，进行NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate、BF™ 647-Annexin V、EthD Gold、Hoechst 33342同时共染后合成画面Merge；
- (3) 抑制组：诱导凋亡并抑制Caspase-3/7活性处理后的K652细胞，进行NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate、BF™ 647-Annexin V、EthD Gold、Hoechst 33342同时共染后合成画面Merge。

结果判读：在经过凋亡诱导处理后，与阴性对照相比 Caspase-3/7 活性明显增加（绿色荧光亮度、细胞个数显著增强），磷脂酰丝氨酸(PS)外翻水平显著增加（红色荧光亮度、细胞个数显著增强），EthD Gold 信号明显增加，表明 Caspase-3/7 活性被激活、PS 外翻显著、凋亡细胞数量增加。在加入 Caspase-3/7 Inhibitor 后，与阳性组对比 Caspase-3/7 活性明显降低（绿色荧光亮度、细胞个数显著降低），PS 外翻水平显著降低，但与阴性组对比，抑制组高于阴性组的 PS 外翻水平及凋亡细胞数，结果表明在抑制 Caspase-3/7 活性后，会激活其他的凋亡通路。

注：实际检测结果可能因检测仪器、操作条件、细胞类型等差异产生不同，本示例仅提供参考。



2. 定量分析（流式细胞仪）：

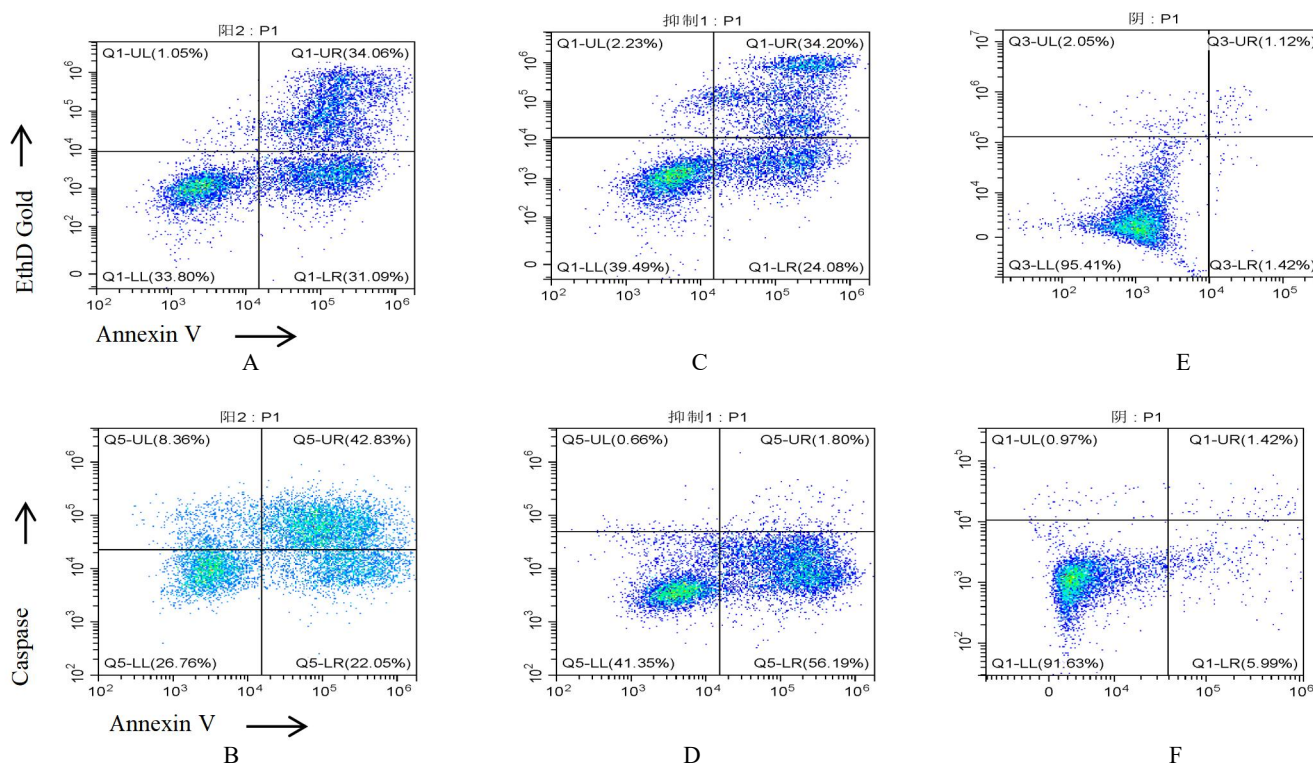


图 2. PanSpatio™ Caspase-3/7 Activity and Annexin V Dual Apoptosis Assay Kits (以 C21206 为例) 流式细胞术分析

本实验以 K562 细胞为样本，以凋亡诱导组为阳性处理组（图 2.A、2.B），以未处理组为阴性对照（图 2.E、2.F），以凋亡诱导+Caspase-3/7 Inhibitor 为阳性抑制组（图 2.C、2.D），对 K562 细胞处理后染色，进行流式上机检测。

结果判读 1：以图 A 为例可以区分出活细胞（左下）、早期凋亡细胞（右下）、凋亡晚期细胞（右上）、坏死细胞（左上）；以图 B 为例可以计算 K562 细胞的凋亡率（双重验证凋亡：总细胞数减去活细胞数（左下））。

结果判读 2：对 K562 细胞进行凋亡诱导后，凋亡细胞比例显著高于阴性对照；活细胞比例显著低于阴性对照（见图 2.A、图 2.E）。通过双重凋亡检验阳性组的凋亡率显著高于对照组（图 2.B、图 2.F）。在加入 Caspase-3/7 Inhibitor 后，Caspase-3/7 活性明显降低，细胞的凋亡率显著低于阳性组（见图 2.B、图 2.D），但是又因为有凋亡诱导剂的存在，其他的凋亡通路会被激活。

注：实际检测结果可能因检测仪器、操作条件等差异产生不同，本示例仅提供参考。

常见疑问与解答：

● 问：可以在染色前或染色后使用固定细胞吗？

答：要观察凋亡细胞的不同状态，只能用活细胞诱导凋亡后进行检测。如果将细胞进行固定，细胞在固定过程中将全部死亡，染色结果将出现大量的假阳性凋亡或信号。

● 问：使用贴壁细胞进行流式检测时为什么要保留培养细胞的培养基？

答：药物处理后的细胞已经存在凋亡细胞，这些细胞的贴壁能力逐渐降低，会游离在培养基中，染色检测时需将这部分细胞考虑进去，否则检测结果中可能凋亡或坏死细胞的比例会比较低，对药物效果或者细胞处理效果的评价会产生错误判断；且细胞培养基中含有的血清能够高效的中和胰酶，残留的胰酶会降解后续染色过程中的 Annexin V，导致染色失败。

● 问：EthD Gold 相较 PI 的核心优势有哪些？

答：EthD Gold 比 PI 用更低剂量、更高亮度、更严膜筛，给出“更真、更亮、更锐”的死细胞群。

a. 亮度更高：与 DNA 结合后荧光强度比 EthD-I 再提升 45%，同等曝光下信号更强，拍照或流式检测更敏感。

b. 特异性更好：分子量、膜通透性要求更严格，仅标记膜严重破损的细胞，不标记“轻度膜渗漏”的晚期凋亡，减少假阳性。

c. 毒性更低：工作浓度可比 PI 低 3~7 倍，即可达到同等或更高荧光，长时间孵育几乎不引起额外细胞死亡，流式坏死群比例更接近真实。

d. 无 RNA 干扰：几乎不与 RNA 结合，无需额外 RNase 处理，DNA 群像更干净，流式直方图 CV 值更小。



e.分群更锐利：双参数图上 EthD Gold 阳性群与阴性群间距大，早期/晚期/坏死三界界限清晰，便于 gate 设定。

f.兼容固定前检测：虽同样不可固定，但在“活染-上机”流程中信号稳定，固定前拍照/采集不会出现 PI 常见的洗脱-扩散问题。

- 问：为什么 Caspase-3/7 Inhibitor 在我的细胞中没有抑制 NucTrack™ 488 染色？

答：Caspase-3/7 Inhibitor 是一种可逆的竞争性抑制剂，细胞渗透性有限，可能不足以阻断非常高的 Caspase-3/7 活性水平。根据我们的经验，抑制剂处理可能会降低 NucTrack™ 染色的细胞荧光强度，但通常不会降低到未经处理的对照细胞的水平。在凋亡诱导之前或之后添加像 Z-DEVD-FMK 这样的不可逆抑制剂可能更有效地抑制 Caspase 活性。

- 问：在进行双重凋亡分析后，能固定细胞吗？

答：可以。建议使用 2~4% 的甲醛在室温下固定 10~15 min。过度固定可能导致信号减少。为了保留 Annexin V 染色，应在所有缓冲液中加入 1.25 mM CaCl₂。不建议使用甲醇固定。NucTrack™ 488 染色可以承受 0.1% Triton X-100 的通透化处理，以便进行后续的免疫染色，信号强度在通透化和洗涤后可能会降低。Annexin V 染色不能承受去污剂通透化。

- 问：NucTrack™ Caspase-3/7 底物对 Caspase-3/7 的特异性如何？

答：与其他 Caspase-3/7 底物一样，NucTrack™ Caspase-3/7 底物基于 DEVD Caspase-3/7 共识序列，该序列也可以被 Caspase-7 切割。由于 Caspases 之间底物特异性的重叠，其他 Caspases 也可能切割 DEVD 底物。

- 问：可以使用哪些细胞类型与 NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate 一起使用？

答：NucTrack™ 488 Caspase-3/7 Substrate 在已发表的科学文献中被报道在多种原代细胞和永生化细胞系中有效。

- 问：双重凋亡分析能用于组织染色吗？

答：双重凋亡分析不能用于固定细胞或组织切片。我们尚未验证该分析用于活组织染色。

