

## 百萤生物带你走近细胞凋亡检测（三）

细胞凋亡之所以成为人们研究的一个热点，在很大程度上决定于细胞凋亡与临床病毒的密切关系。这种关系不仅表现在凋亡及其机制的研究，阐明了一大类免疫病的发病机制，而且由此可以导致疾病新疗法的出现。除了前两期谈到的细胞凋亡检测方法及试剂外，今天百萤带您来了解一下其他的检测细胞凋亡的方法。

### 其他的细胞凋亡检测

除了检测线粒体膜电位的变化或半胱天冬酶活化之外的各种参数可用于监测细胞凋亡。例如，据报道，通过直接 GSH 氧化或从细胞输出 GSH 降低细胞谷胱甘肽 (GSH) 浓度是凋亡信号传导中的初期。减少 GSH 是防御自由基和维持细胞内细胞内氧化还原水平的关键因素。GSH 在胞质溶胶中自由分布，并且在线粒体等细胞器中被分隔。线粒体 GSH (mGSH) 在修复和防御由氧化应激和不断产生的活性氧 (ROS) 引起的损伤中起重要作用。研究表明，mGSH 的消耗将引发线粒体透化和效应 caspase 活化的交替。为了测量还原 GSH 的浓度，AAT Bioquest 开发了一种专有的非荧光 Thiolite™ Green 染料，可用于 Cell Meter™ 细胞内 GSH 检测试剂盒。在活的非凋亡细胞中，绿色荧光强度通过 Thiolite™ Green 在靶细胞的胞质溶胶和线粒体中的积累而增加。在凋亡细胞和死细胞中，Thiolite™ Green 的荧光强度通过降低的 GSH 浓度而降低。用 Thiolite™ Green 染色的细胞可以用流式细胞仪观察，并且可以与其他凋亡测定结合用于多参数研究。通过 Thiolite™ Green 在靶细胞的胞质溶胶和线粒体中的积累，绿色荧光强度增加。在凋亡细胞和死细胞中，Thiolite™ Green 的荧光强度通过降低的 GSH 浓度而降低。用 Thiolite™ Green 染色的细胞可以用流式细胞仪观察，并且可以与其他凋亡测定结合用于多参数研究。**(使用 Cell Meter™ 细胞内 GSH 检测试剂盒对荧光强度变化的实例数据分析可在下面的图 1 中找到)**

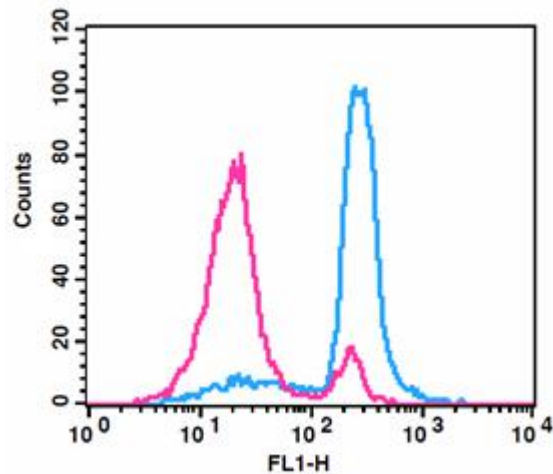


图 1. 在 Jurkat 细胞中添加喜树碱后 Thiolite™Green 的荧光强度降低。Jurkat 细胞进行处理过夜，不（蓝线）或在 37 °C，5%CO<sub>2</sub> 培养箱中，然后染料装载 Thiolite™Green 30 分钟。使用 FL1 通道，用 FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA) 流式细胞仪测量 Thiolite™Green 的荧光强度。

## 通过膜联蛋白 V 结合物检测细胞凋亡的早期阶段：

检测细胞膜的形态变化是检测活细胞凋亡过程早期阶段的有效方法。通过检测细胞溶质磷脂，磷脂酰丝氨酸 (PS) 的表达，可以实现对这些变化的监测，例如膜对称性的丧失。在细胞凋亡的初始阶段，细胞膜不稳定，使 PS 从细胞的细胞质侧转移到细胞膜的外部小叶，在那里它们可以通过膜联蛋白检测。膜联蛋白是参与信号转导的钙依赖性磷脂结合蛋白家族，其优先结合 PS。AAT Bioquest 公司开发了一系列与我们的 iFluor™染料系列结合的全面 Annexin V 蛋白。它们共同构成 PS 传感器，专门与 PS 结合，具有出色的光稳定性。对于更灵敏的检测或处理小样本或有限样本时，请使用百萤生物的 Cell Meter™PS 凋亡试剂盒，其中包含 Apopxin PS 传感器。Apopxin 对 PS 的高亲和力比其他基于 Annexin-V 的商业试剂盒具有更强的分析能力。

下面的图 2 是使用流式细胞仪检测膜联蛋白 V-mFluor Violet™450 与 PS 在 Jurkat 细胞凋亡中的结合活性的实例。在活的非凋亡细胞中，膜联蛋白 V-mFluor

Violet™450 检测非诱导细胞中的先天性细胞凋亡，其通常为所有细胞的 2-6%。在凋亡细胞中，膜联蛋白 V-mFluor Violet™450 与 PS 结合，PS 位于细胞膜的外部小叶上，导致染色强度增加。

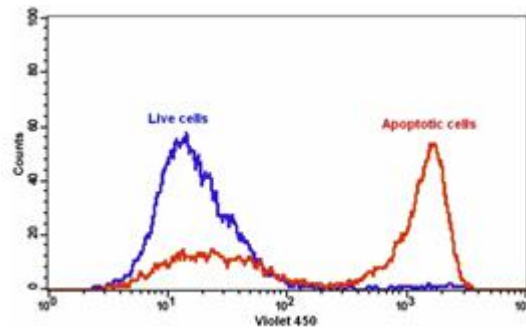


图 2. 检测膜联蛋白 V-mFluor Violet™450 和磷脂酰丝氨酸在 Jurkat 细胞中的结合活性。Jurkat 细胞无（蓝色），或与在 37 1 个 μM 星形孢菌素（红色）处理<sup>0</sup>C，5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 5 小时后，经过染料加载用膜联蛋白 V-mFluor 紫™450 30 分钟。使用 FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA) 流式细胞仪，使用紫外激光在 Ex / Em = 405 / 450nm 下测量膜联蛋白 V-mFluor Violet™450 的荧光强度。

如需更多关于细胞凋亡的研究，请您咨询百萤生物，您可以获得关于细胞凋亡的全部资料，资料包括监测 DNA 片段化和缩合，细胞坏死测定，自噬测定等，检测细胞凋亡过程晚期的检测方法。

## 涉及到的产品信息

品牌	货号	名称
AAT	21508	Thiolite™ Green 硫醇化合物绿色荧光探针
AAT	22810	Cell Meter™细胞内谷胱甘肽 GSH 检测试剂盒
AAT	22831	Cell Meter™磷脂酰丝氨酸细胞凋亡检测试剂盒
AAT	20080	Annexin V-mFluor™ Violet 450 标记

百萤生物是 AAT Bioquest 的中国总代理商，为国内提供 AAT 的优质产品以及各类产品定制、售后技术服务，欢迎咨询！