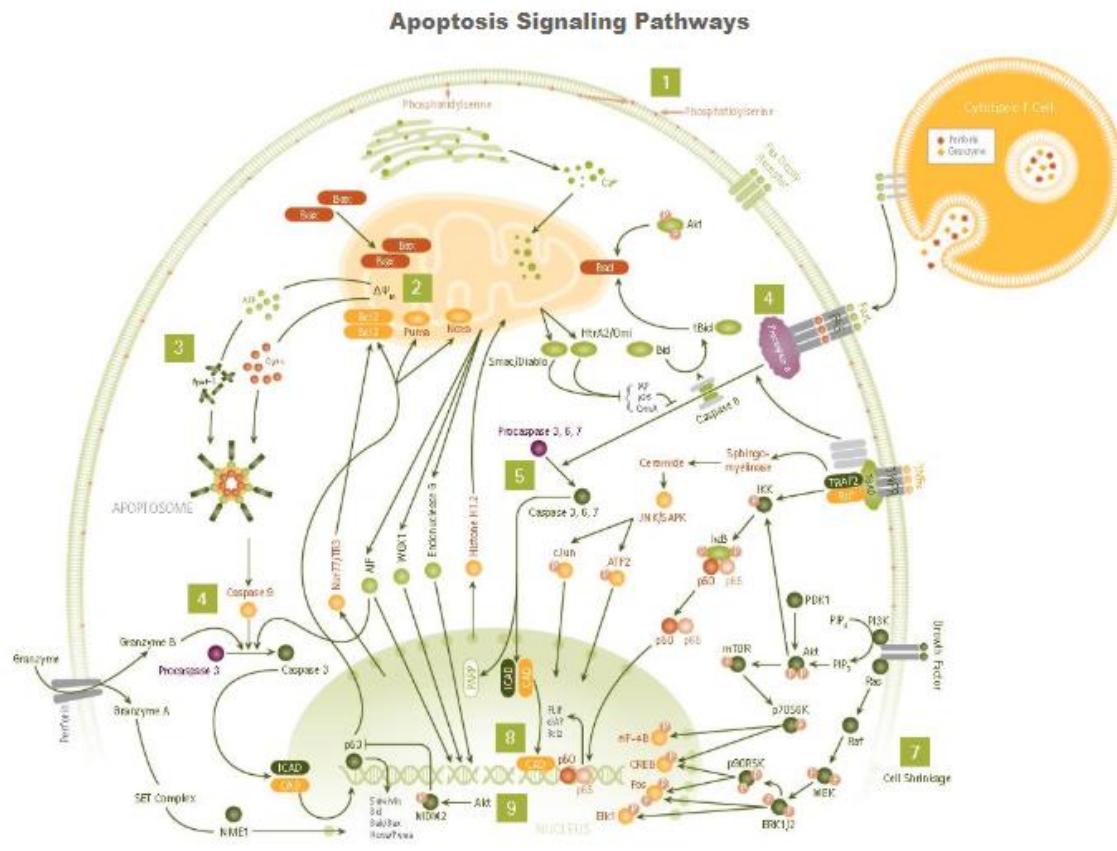


تست های سلول محور برای تشخیص آپتوز

اپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده سلول ، مکانیسم تنظیمی برای محدود کردن رشد سلول است که توسط آن سلول ها می توانند در پاسخ به سیگنال های خارجی که به علت آسیب غیر قابل جبران سلول یا DNA است موجب مرگ خود شده توانایی سلول های توموری برای از بین بردن آپوپتوزیک از نشانه های بسیاری از انواع سرطان است . همچنین آپوپتوز در مکانیسم های تکثیر و رشد نقش مهمی را مانند جلوگیری از رشد بیش از حد سلول های عصبی در تکامل مغزی و تنظیم فاصله بین دنده ای در تکامل اندام ها ایفا می کند اتوفژی و آپوپتوز ارتباط گسترده ای باهم دارد به عنوان مثال در طی کمبود موادمغذی ، اتوفژی عملکرد مثبتی برای مقابله سلول دارد هر چند اتوفژی بیش از حد می تواند موجب مرگ سلول و تغییر مورفولوژی سلول شود . آپوپتوزیک فرآیند چند مرحله ای شامل وقایع اولیه میانه و اواخر است که می تواند با استفاده از تست های مختلف سلولی شامل روش های کاسپاز Tunnel•Anexin v ، Caspase



مراحل آپوپتوز

1- وقایع اولیه : انتقال فسفاتیدیل سرین به بخش خارجی غشا پلاسمایی ، از دست رفتن پتانسیل غشا میتوکندری انتشار سیتوکروم و ATP، فعال شدن کاسپاز ۸،۹

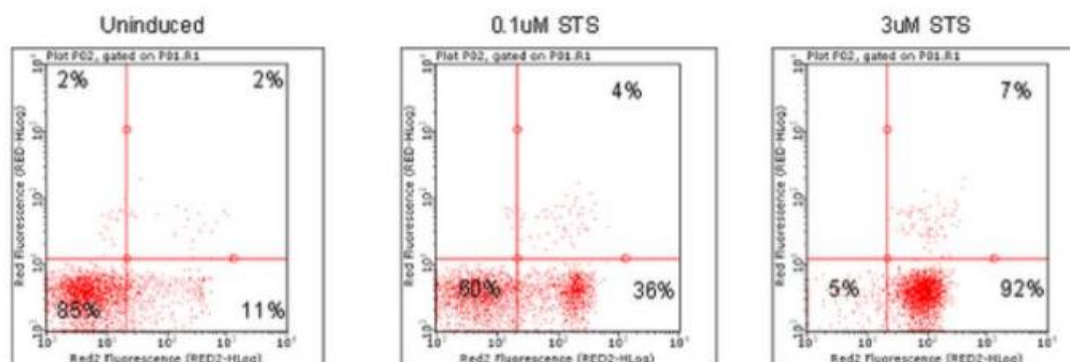
2- وقایع مرحله میانی : فعال شدن کاسپاز ۳،۶،۷ شکستن poly-ADP-ribose انقباض سلولی فعال سازی پلیمراز هسته ای

3- وقایع مرحله آخر: تجزیه DNA، فروپاشی هسته ای ، تشکیل اجسام آپپتوتیک ، فاگوسیتوز توسط ماکروفاژ

مرحله اولیه آپوپتوز:

تست AnnexinV- فسفاتیدیل سرین به طور معمول در سطح داخلی غشا سلول های زنده وجود دارد . انتقال آن به خارج غشا طی مرحله اولیه آپوپتوز رخ میدهد و در آنجا به عنوان یک سیگنال برای حمله سلول های فاگوسیتوتیک عمل میکند آنکسین ها خانواده ای از پروتئین ساختاری متصل به هم هستند که میتوانند بصورت خاص به غشای سلولی متصل شوند . این میل بسیار بالا موجب میشود نشانگر خوبی برای مرحله اولیه آپوپتوز باشد

Product Description	Detection Options	Sample Type	Application	Part Number
ApopNexin™ Kits (EMD)	Fluorometric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Immunofluorescence	APT750, PF032, CBA059, CBA060
Guava/Muse Annexin V Assay Kits (EMD)	Fluorometric	Suspension Cells	Flow Cytometry	4500-0450, 4500-0455, FCCH100108, MCH100105,
Annexin-V Kits (Sigma)	Fluorometric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Immunofluorescence Flow Cytometry	APOAF, APOAC, ROANNV, 11828681001



شناسایی میتوکندریایی :

میتوکندری از ارگانل های مهم سلول میباشد که در حفظ تعادل انرژی بسیار مهم است و دارای پروتئین های تنظیم کننده مرگ سلولی هستند و نقش مهمی در تولید استرس اکسیداتیو سلولی ایفا میکنند . به نظر میرسد که فروپاشی پتانسیل غشای میتوکندری با نفوذ پذیری غشای خارجی میتوکندری و آزاد شدن سیتوکروم C و دیگر پروتئین های پروبیوتیک به سیتوزول هماهنگی داشته باشد و باعث وقوع دیگر مراحل آپوپتوز میشود .

Product Description	Detection Options	Sample Type	Application	Part Number
Guava® Mitochondrial Depolarization/Stress/ Damage Kits (EMD)	Fluorometric	Suspension Cells	Flow Cytometry	4500-0250, FCCH100109, FCCH100106
MitoLight® Mitochondrial Apoptosis Detection Kits (EMD)	Fluorometric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Immunofluorescence	APT142, APT242
Mitochondrial Membrane Potential Kit (Sigma)	Fluorometric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Immunofluorescence/ Flow Cytometry	MAK159, MAK160
Cytochrome C Assay Kits (Sigma)	Colorimetric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Plate Reader	CY0100, CYTOCOX1
Mitochondria Isolation Kits (Sigma)	N/A	Adherent Cells/ Suspension Cells	Isolation	MITOISO1, MITOISO2, CS0760
JC-1 Dye (Sigma)	Fluorometric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Live Cell Imaging	T4069

مرحله میانی آپوپتوز:

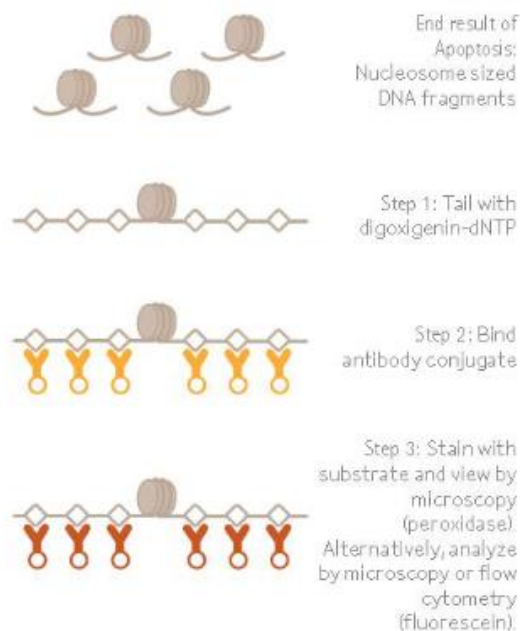
تست تشخیص کاسپاز – یکی از ترکیبات مرکزی در پروسه آپوپتوز، آنزیم پروتئولیتیکی است به نام کاسپاز. کاسپاز ها در یک سری واکنش هایی که در پاسخ به سیگنال های پروبیوتیک ایجاد میشود ، درگیر شده و منجر به جدا سازی سلول های پروتئین میشوند. این آنزیم به طور خاص ۴-۵ اسید آمینه را در بستر هدف مورد بررسی قرار می دهد که لزوما حاوی بقا یای اسیداسپارتیک است .

Product Description	Detection Options	Sample Type	Application	Part Number
CaspaTag™ Pan-Caspase CaspaTag™ Caspase-3,7 CaspaTag™ Caspase-8 CaspaTag™ Caspase-9	Fluorometric	Adherent Cells/ Suspension Cells/Tissue	Immunofluorescence/ Cytometry/Plate Reader	APT400, APT420, APT403, APT423, APT408, APT428, APT409, APT429
CaspSCREEN™ Kit (EMD)	Fluorometric	Suspension Cells	Cytometry	APT105
Guava® Caspase Kits (EMD)	Fluorometric	Suspension Cells	Flow Cytometry	4500-0500, 4500-0530, 4500-0540, 4500-0550
Caspase Activity Kits (EMD)	Fluorometric/ Colorimetric/ Chemiluminescent	Cell Lysates	Plate Reader	APT129, APT131, APT165, APT171, APT173
Caspase 3/8 Assay Kit (Sigma)	Fluorometric/ Colorimetric	Adherent Cells/ Suspension Cells	Immunofluorescence/Cytometry	CASP3C, CASP3F, CASP8C, APPA015

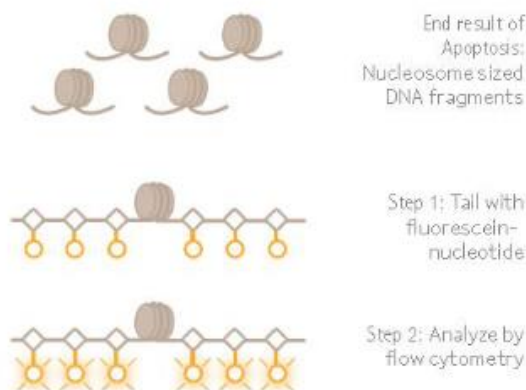
مرحله انتهایی آپتوز:

تست TUNEL – تکه تکه شدن DNA در آپتوز به طور معمول با تغییرات ساختاری در مورفولوژی سلولی همراه است که میتواند مشخصه این مرحله از آپتوز باشد تجزیه DNA در آپتوز را میتوان توسط تست TUNEL مورد بررسی قرار داد. رنگ آمیزی درون رشته ای DNA توسط ازمون TUNEL تشخیص داده میشود و توسط میکروسکوپ نوری ، اطلاعات مهمی در مورد آسیب DNA و مرحله انتهایی آپتوز میدهد

Indirect



Direct



Product Description	Detection Options	Sample Type	Application	Part Number
Guava® TUNEL Kit (EMD)	Fluorometric	Suspension cells	Flow Cytometry	4500-0121
ApopTag® TUNEL Kits (EMD)	Fluorometric/ Colorimetric	Adherent Cells/ Suspension Cells/Tissue	Immunohistochemistry/ Immunofluorescence/ Cytometry	S7100, S7101, S7110, S7111, S7160, S7165
ApopTag® ISOL Kits (EMD)	Fluorometric/ Colorimetric	Adherent Cells/ Suspension Cells/Tissue	Immunohistochemistry/ Immunofluorescence	APT1000, S7200
FragEL™ DNA Fragmentation Detection Kits (EMD)	Fluorometric/ Colorimetric	Adherent Cells/ Suspension Cells/Tissue	Immunohistochemistry/ Immunofluorescence	QIA21, QIA33, QIA39
Flow Cytometry Kit for Apoptosis (Sigma)	Fluorometric	Suspension cells	Flow Cytometry	APOBRDU
Cell Death Detection Kits (Roche)	Fluorometric/ Colorimetric	Adherent Cells/ Suspension Cells/ Tissue	Immunohistochemistry/ Immunofluorescence/ ELISA	06432344001, 11835246001, 11585045001, 11684795910, 11684809910, 11684817910, 12156792910, CELLDETH-RO

تست H2A.X : شکستن دو رشته ای DNA (DSB) به سرعت منجر به فسفوریلاسیون هیستون H2A.X در Ser139 به خوبی در هر DSB انجام می پذیرد، فسفو-H2A.X یک نشانگر مناسب برای بررسی آسیب DNA و مرحله انتهایی آپتوز است.

Product Description	Detection Options	Sample Type	Application	Part Number
H2A.X Phosphorylation Assay Kit (EMD)	Chemiluminescent	Adherent Cells/ Suspension Cells	ELISA	17-327
H2A.X Phosphorylation Assay Kit (EMD)	Fluorometric	Suspension cells	Flow Cytometry	17-344
FlowCelect™ Histone H2A.X Phosphorylation Assay Kit (EMD)	Fluorometric	Suspension cells	Flow Cytometry	FCCS100182

نتیجه:

مرگ برنامه یزی شده سلول (آپتوز) با مسیرهای مختلف سیگنالینگ، آبخارهای آنزیمی آپتوز وابسته اند به کاسپاز، تکه تکه کردن DNA و در نهایت تخریب سلول کنترل میشود. یکپارچگی این پروسه میتواند در بسیاری از بیماریها مانند سرطان و اندازه گیری میزان آپتوز در بسیاری از تحقیقات مورد استفاده قرار گیرد