

## 细胞程序性坏死诱导试剂盒(TSZ法)

产品编号	产品名称	包装
C1058S	细胞程序性坏死诱导试剂盒(TSZ法)	100次
C1058M	细胞程序性坏死诱导试剂盒(TSZ法)	500次

### 产品简介:

- 细胞程序性坏死诱导试剂盒(TSZ法) (Necroptosis Inducer Kit with TSZ)是由TNF- $\alpha$ 、SM-164和Z-VAD-FMK (简称TSZ)按一定的比例混合而成, 可以非常有效地诱导细胞程序性坏死。
- 本产品可以非常有效地诱导L-929、HT-29等细胞的程序性坏死。使用本产品诱导L-929细胞程序性坏死的效果图参考图1。

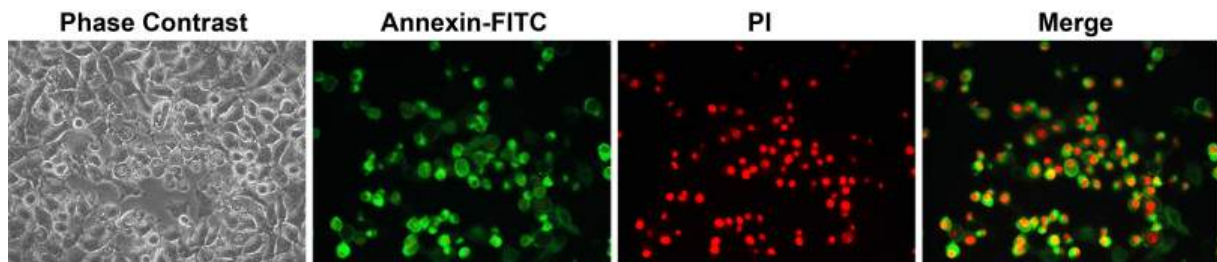


图1. 本产品诱导L-929细胞程序性坏死的效果图。本产品处理L-929细胞4-5小时, 并用碧云天的Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(C1062)进行凋亡和坏死检测。绿色荧光为Annexin V-FITC染色, 是凋亡或坏死阳性细胞; 红色荧光是PI染色, 是坏死阳性细胞; 绿色荧光和红色荧光重叠的是坏死细胞; 仅绿色荧光的是凋亡细胞。

- 细胞死亡包括凋亡(apoptosis)、坏死(necrosis)、焦亡(pyroptosis)等多种形式。其中受调控的细胞死亡被称为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD), 而不受调控的细胞死亡被称为坏死。程序性细胞死亡包括凋亡、细胞程序性坏死(programmed necrosis)或坏死性凋亡(necroptosis)和焦亡等。
- 细胞凋亡是生物体发育等生命过程中普遍存在的、由基因决定的细胞主动有序的死亡方式。当细胞遇到内、外环境因子刺激时, 启动基因调控的自杀保护措施, 去除体内非必需细胞或即将发生特化的细胞。在这一过程中, 细胞脱落离体或裂解为若干凋亡小体, 并迅速被巨噬细胞或邻近细胞清除, 不会导致炎症反应, 这是一种由基因控制、高度有序的细胞自主死亡, 包含一系列信号事件组成的通路。细胞凋亡的主要特征包括细胞膜保持完整、细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻(Annexin V染色阳性)、基因组DNA片段化(DNA fragmentation)(即产生DNA ladder并且TUNEL染色阳性)、电镜或荧光染色时细胞核碎裂或致密浓染、Caspase 3等激活、线粒体膜电位下降、细胞色素c从线粒体内释放等。
- 坏死是由非特异性和非生理压力诱导产生的一种偶然且非调控、被动的细胞死亡, 如物理性或化学性的损害因素及缺氧与营养不良等都可以导致细胞坏死。坏死细胞的膜通透性增高, 致使细胞肿胀, 细胞器变形或肿大, 早期核无明显形态学变化, 最后细胞破裂, 细胞裂解后释放出内含物, 并常引起炎症反应, 但没有凋亡或自吞噬标志物。通常, 凋亡对生命体是有利的, 而坏死很可能是有害甚至是致命的。
- 细胞程序性坏死(programmed necrosis)或坏死性凋亡(necroptosis)是一种新型的高度受调控的细胞死亡方式, 与机体先天免疫反应、炎症相关疾病的发生发展等关系密切, 如细菌和病毒感染, 或动脉粥样硬化等无菌损伤导致的炎性病变。在凋亡发生条件缺乏时(主要是Caspase 8被抑制), 特别是含caspase抑制剂的条件下, 肿瘤坏死因子受体家族(TNF- $\alpha$  receptor)以及Toll-like的受体家族启动, 并通过和受体蛋白相关作用的两个蛋白激酶RIP1和RIP3传递死亡信号, RIP3可使其特异性底物蛋白MLKL磷酸化, 从而使MLKL从单体状态向多聚体状态的转化。多聚化的MLKL可以结合磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol phosphates)和线粒体特异的心磷脂(cardiolipin), 从而从细胞质转移到细胞膜和细胞器膜上, 并在这些膜结构中形成通透性孔道, 继而破坏膜的完整性, 引起细胞坏死。最新研究也表明, 在TNF- $\alpha$ 刺激下, RIP3的磷酸化激活丙酮酸脱氢酶复合体(pyruvate dehydrogenase complex, PDC), 促进细胞耗氧及ROS产生, 从而增强坏死小体形成。越来越多的研究表示, 程序性坏死是一种重要的细胞死亡机制, 在脑缺血、心急缺血、急性和慢性神经退行性疾病、肿瘤等多种人类病理活动中具有重要作用。
- 细胞焦亡(pyroptosis)也是一种新的细胞程序性死亡方式, 表现为细胞不断胀大直至细胞膜破裂, 导致细胞内容物的释放进而激活强烈的炎症反应。细胞焦亡是机体重要天然免疫反应, 在拮抗感染和内源危险信号中发挥重要作用。相比于细胞凋亡, 细胞焦亡发生的更快, 并会伴随大量促炎症因子的释放。
- 细胞凋亡(apoptosis)、程序性坏死(necroptosis)和焦亡(pyroptosis)的主要区别见下表:

	Apoptosis	Necroptosis	Pyroptosis
Trigger	Death receptor activation	Death receptor activation when caspase-8 is	Activation of inflammasomes by

		inhibited	pathogens
Inflammatory response	No	Yes	Yes
Key proteins	Caspase family	RIPK1、RIPK3、MLKL	Caspases 1、4、5 and 11、Gasdermin D
Morphology	Cell rounding、blebbing、formation of apoptotic bodies	Organ swelling、membrane rupture、release of cell contents	Plasma membrane rupture、release of cell contents、maintained mitochondrial integrity
Programmed cell death	Yes	Yes	Yes

- 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是一种主要由巨噬细胞和其它一些类型细胞如CD4<sup>+</sup>淋巴细胞、NK细胞等产生的促炎细胞因子，不仅具有选择性杀伤某些肿瘤细胞的功能，而且有多种免疫调节作用。生理条件下具有生物学活性的人肿瘤坏死因子- $\alpha$  (hTNF- $\alpha$ )是一个紧密的三聚体，其活性位点位于两个相邻亚基之间的V型结构域，hTNF- $\alpha$ 有两种不同的受体TNFR1和TNFR2，分别介导不同的生物学活性。在对hTNF- $\alpha$ 结构与功能研究的基础上，人们对其N末端、C末端和受体结合位点进行基因改造，研制了一系列衍生物，以提高hTNF- $\alpha$ 的抗肿瘤活性，降低毒副反应。
- SM-164是Smac (Second mitochondria-derived activator of caspase)的二价模拟物，可渗透细胞，对cIAP-1、cIAP-2和XIAP的抑制常数Ki分别为0.31nM、1.1nM和0.56nM。SM-164是一种抗癌剂，可以诱导肿瘤细胞中cIAP-1/2的降解、拮抗XIAP、诱导TNF $\alpha$ 依赖性的凋亡，从而发挥其抗肿瘤作用。
- Z-VAD-FMK (carbobenzoxy-valyl-alanyl-aspartyl-[O-methyl]-fluoromethylketone)是一种可穿透细胞膜的泛Caspase抑制剂，可与caspase的催化活性部位发生不可逆结合，抑制细胞凋亡。
- 对于6孔板，每孔2ml细胞培养液时，本试剂盒可用于100或500个细胞样品的程序性坏死诱导；对于96孔板，每孔200 $\mu$ l细胞培养液时，可用于1000或5000个细胞样品的程序性坏死诱导。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
C1058S	细胞程序性坏死诱导试剂(1000X)	200 $\mu$ l
C1058M	细胞程序性坏死诱导试剂(1000X)	200 $\mu$ l $\times$ 5
—	说明书	1份

#### 保存条件：

-20 $^{\circ}$ C保存，一年有效。

#### 注意事项：

- 为确保取得良好的使用效果，第一次解冻后建议适当分装保存。
- 由于细胞程序性坏死的诱导具有细胞特异性，不同细胞发生坏死的机制也不尽相同，因此本产品不能确保可以诱导任意一种细胞的程序性坏死。
- 本产品对人体有害，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，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。

#### 使用说明：

1. 按照1:1000的比例将细胞程序性坏死诱导试剂(1000X)加入到待诱导细胞的培养液中，适当混匀。
2. 正常条件下培养2、4、8、12或24小时后观察细胞程序性坏死的情况。对于L-929细胞和HT-29细胞，通常4小时左右在显微镜下可以看到明显的细胞形态变化，此时可以检测到非常明显的细胞坏死。如果诱导其它种类的细胞或培养条件有所变化，请自行摸索细胞程序性坏死诱导试剂(1000X)的稀释比例和诱导时间。

#### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0005	细胞凋亡阳性对照试剂盒	200次
C0006S	细胞凋亡诱导试剂盒(TNF- $\alpha$ +SM-164)	100次
C1052	细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒	50次
C1056	细胞凋亡与坏死检测试剂盒	100次
C1058S	细胞程序性坏死诱导试剂盒(TSZ法)	100次
C1058M	细胞程序性坏死诱导试剂盒(TSZ法)	500次
C1062S	Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	20次
C1062M	Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	50次

C1062L	Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒	100次
C1065S	Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	20次
C1065M	Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	50次
C1065L	Annexin V-PE细胞凋亡检测试剂盒	100次
C1067S	Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒	20次
C1067M	Annexin V-EGFP细胞凋亡检测试剂盒	50次
C1071S	线粒体膜电位与细胞凋亡检测试剂盒	20次
C1071M	线粒体膜电位与细胞凋亡检测试剂盒	50次
C1086	一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(绿色荧光)	20次
C1088	一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(绿色荧光)	50次
C1089	一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(红色荧光)	20次
C1090	一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(红色荧光)	50次
C1091	TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(显色法)	20次
C1098	TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(显色法)	50次

### 使用本产品的文献：

1. Chen X,Hao K,Yu X,Huang A,Zhu B,Wang GX,Ling F. Magnolol protects Ctenopharyngodon idella kidney cells from apoptosis induced by grass carp reovirus. FISH SHELLFISH IMMUN. 2018 Mar;74:426-435.
2. Lei Q,Tan J,Yi S,Wu N,Wang Y,Wu H. Mitochondrial acid 5 activates the MAPK-ERK-yap signaling pathways to protect mouse microglial BV-2 cells against TNF $\alpha$ -induced apoptosis via increased Bnip3-related mitophagy. Cell Mol Biol Lett. 2018 Apr 5;23:14.
3. Wang H,Zhao X,Ni C,Dai Y,Guo Y. Zearalenone regulates endometrial stromal cell apoptosis and migration via the promotion of mitochondrial fission by activation of the JNK/Drp1 pathway. Mol Med Rep. 2018 Jun;17(6):7797-7806.
4. Wang Y,Xu H,Lu Z,Yu X,Lv C,Tian Y,Sui D. Pseudo-Ginsenoside Rh2 induces A549 cells apoptosis via the Ras/Raf/ERK/p53 pathway. Exp Ther Med. 2018 Jun;15(6):4916-4924.
5. Zhu G,Zhang W,Liu Y,Wang S. miR-371b-5p inhibits endothelial cell apoptosis in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension via PTEN/PI3K/Akt signaling pathways. Mol Med Rep. 2018 Dec;18(6):5489-5501.
6. Chen C,Wang S,Liu P. Deferoxamine Enhanced Mitochondrial Iron Accumulation and Promoted Cell Migration in Triple-Negative MDA-MB-231 Breast Cancer Cells Via a ROS-Dependent Mechanism. Int J Mol Sci. 2019 Oct 8;20(19). pii: E4952.
7. Wen Chen, Shuangfeng Chen, Chenghua Yan, Yaguang Zhang, Ronghua Zhang, Min Chen, Shufen Zhong, Weiguo Fan, Songling Zhu, Danyan Zhang, Xiao Lu, Jia Zhang, Yuying Huang, Lin Zhu, Xuezhen Li, Dawei Lv, Yadong Fu, Houkun Iv, Zhiyang Ling, Liyan Ma, Hai Jiang, Gang Long, Jinfang Zhu, Dong Wu, Bin Wu, Bing Sun. Allergen protease-activated stress granule assembly and gasdermin D fragmentation control interleukin-33 secretion. Nat Immunol. 2022 Jul;23(7):1021-1030.
8. Feng He, Yuanjun Ma, Shi Li, Haozhe Ren, Qian Liu, Xiaohua Chen, Hui Miao, Tao Ye, Qian Lu, Zuge Yang, Tianle Li, Xin Tong, Hongxu Yang, Mian Zhang, Helin Wang, Yazhou Wang, Shibin Yu. Necroptotic TNF $\alpha$ -Syndecan 4-TNF $\alpha$  Vicious Cycle as a Therapeutic Target for Preventing Temporomandibular Joint Osteoarthritis. J Bone Miner Res. 2022 May;37(5):1044-1055.

Version 2024.03.12