

细胞凋亡坏死定量检测试剂盒

——特异性检测上皮细胞凋亡 / 坏死标记物
利用 M30 Apoptosense[®] ELISA 和 M65 EpiDeath[®] ELISA 进行肝脏细胞凋亡的检测



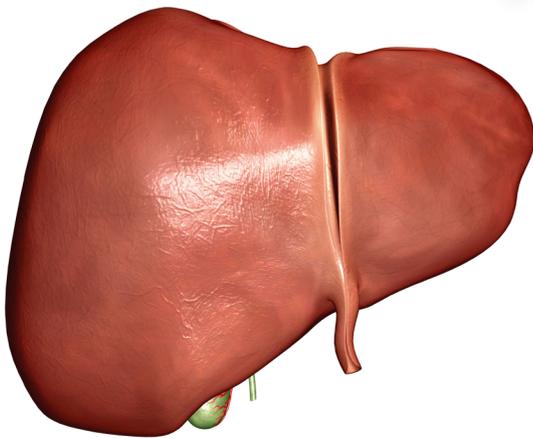
- 体内实验中，定量检测上皮细胞凋亡或者坏死的 ELISA 试剂盒。
- 可运用于肿瘤、肝脏疾病、毒理学、败血症、移植和抗宿主疾病 (GVHD) 等方面的研究。

不良药物反应 (ADR) 是药物研发关注的重点，它的常见形式是药物代谢引起的肝脏毒性。

药物或者药物代谢物可能引起肝脏细胞的凋亡或坏死。不同的毒性刺激可能与不同的细胞凋亡方式相关。

细胞角蛋白 18 (Cytokeratin 18, 简写 CK18 或者 K18) 是上皮细胞特异性表达的一类蛋白。当上皮细胞早期发生凋亡时，具有活性的半胱天冬酶 (Caspase, 比如 caspase-3,-7,-9) 会酶解 CK18 形成三个片段，其中 1 个片段在 aa387-396 含有新生抗原决定簇 (neoepitope, NE)，这一片段称为 caspase-cleaved Cytokeratin 18(ccCK18/ CK18F/ CK18Asp396-NE/M30)。形成凋亡小体时，这些片段释放到细胞外。当上皮细胞发生坏死时，完整的 CK18(没有被 caspase 酶解) 会释放到细胞外。

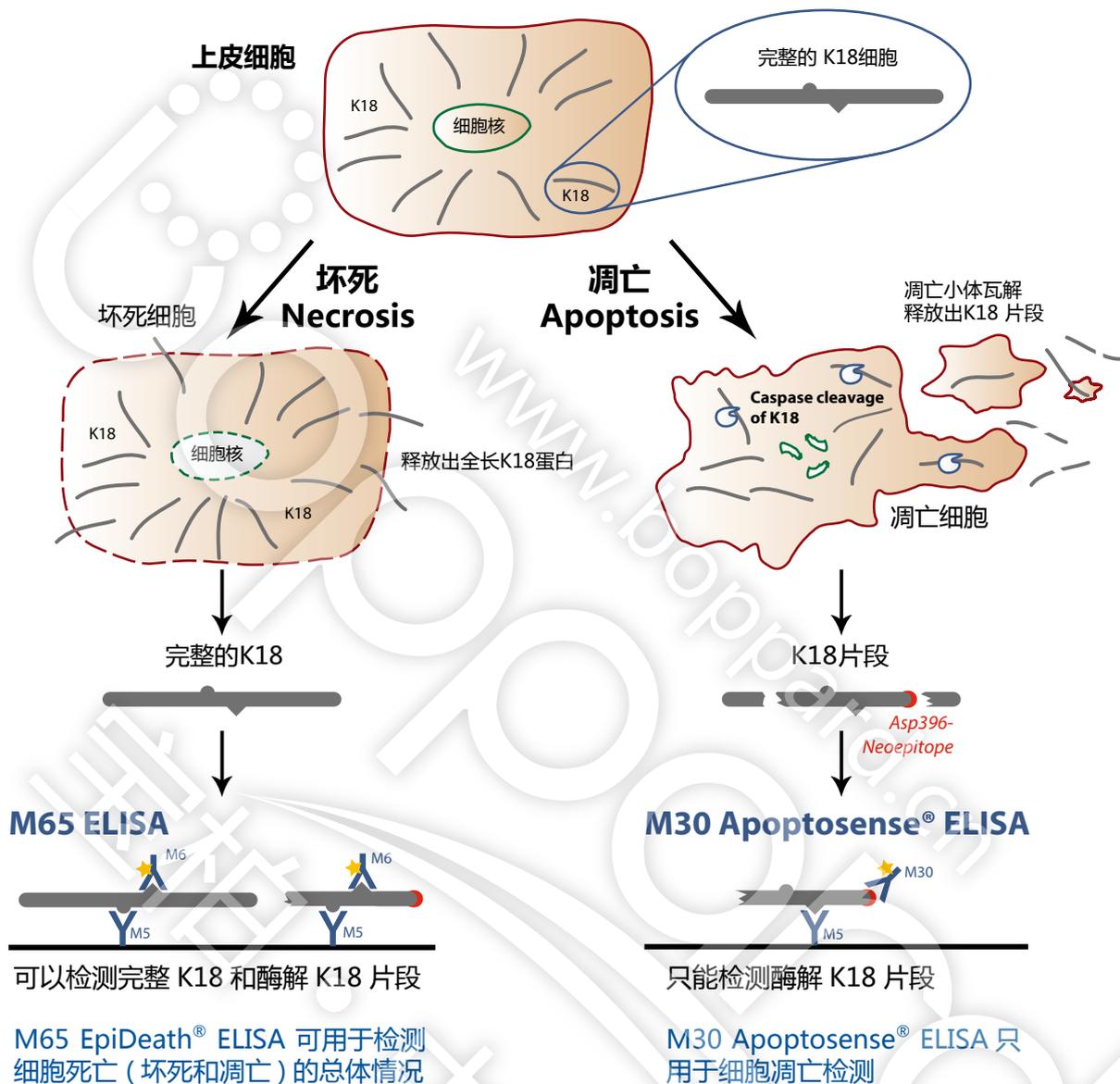
CK18/ K18 分子标记物用于血浆样品细胞凋亡方式的研究。Caspase 酶解的 CK18 反应了细胞凋亡的水平，而总的 CK18 用来衡量所有的细胞死亡 (凋亡和坏死) 水平。可利用 M30 Apoptosense[®] ELISA 检测细胞凋亡，利用 M65 EpiDeath[®] ELISA 检测细胞凋亡和坏死。



M30 Apoptosense[®] ELISA 已经得到广泛应用，结果显示肝损伤患者的血清 / 血浆中 Caspase 酶解 CK18 的含量增加。该试剂盒的主要优点是检测物为细胞凋亡终产物，反映活动性疾病 (持续细胞凋亡) 发展的程度。

CK18 是一种细胞骨架蛋白，在肝脏细胞中表达量丰富。肝脏是人体的较大器官，且肝脏细胞直接与血液接触。因此，血浆中的 CK18 与患者 (无其它疾病，比如肿瘤或肾衰竭) 肝脏组织中的 CK18 类似。

凋亡和坏死细胞中的 K18



细胞凋亡是细胞死亡的调控方式。胞内蛋白 (包括 K18), 被半胱天冬酶 (caspase) 降解。K18 在氨基酸 Asp396 处被裂解。

细胞坏死是细胞死亡的非调控方式, 它以细胞膜的分解和细胞内容物释放到胞外为特点。在细胞凋亡晚期, 胞内蛋白碎片可能释放到胞外, 进入血液循环。

完整的 K18 和酶解 K18 片段在血液中都稳定存在。总 K18 的量反映了细胞凋亡和坏死的程度, 酶解 K18 反映了细胞凋亡的水平。

不同形式的 K18 可以通过特异性 ELISA 试剂盒进行检测。M30 Apoptosense® ELISA 试剂盒利用 M30 单克隆抗体, 特异性结合 Asp396 新生抗原决定簇 (neo-epitope, NE), 而不与天然蛋白结合。因此 M30 Apoptosense® ELISA 试剂盒专用于细胞凋亡检测。

M65 EpiDeath® ELISA 试剂盒用于总 K18 的检测, 它利用 2 种单克隆抗体, 与常规的抗原决定簇 (epitope) 特异性结合, 可同时检测完整 K18 和酶解 K18 片段的含量。

同时使用 M30 Apoptosense® ELISA 和 M65 EpiDeath® ELISA 试剂盒可以对细胞死亡进行定性和定量分析。

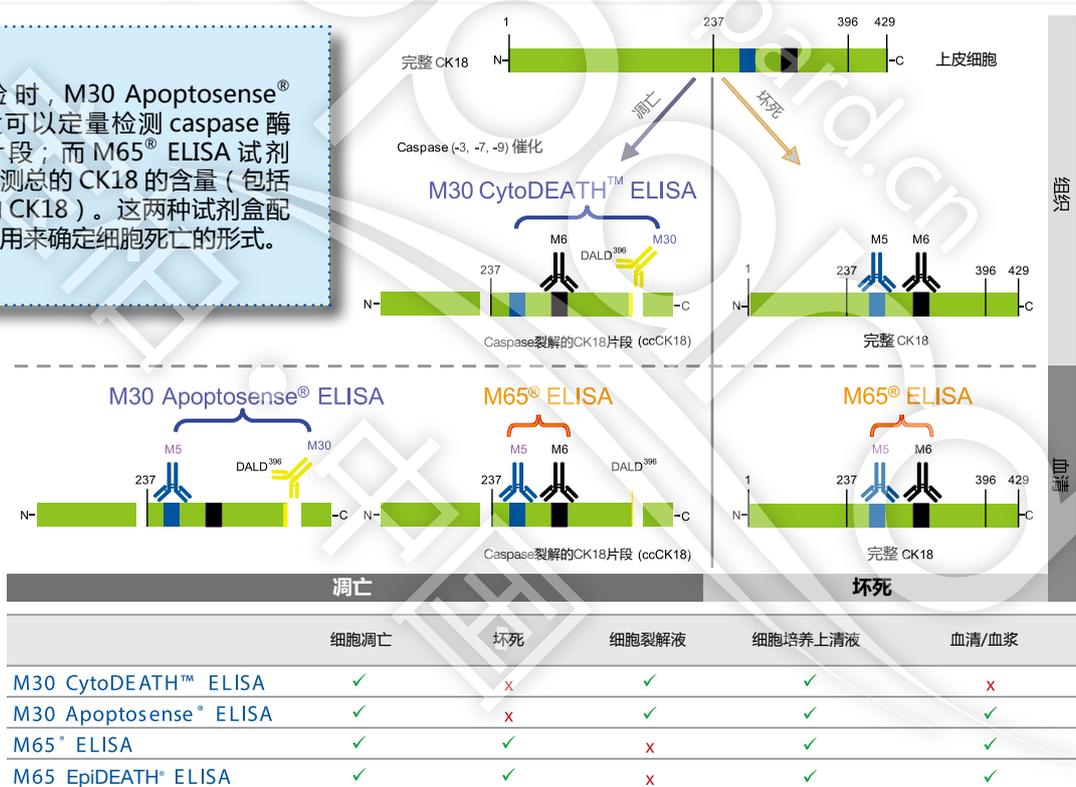
ccCK18 作为上皮细胞凋亡生物标记物的优势

- 上皮细胞和组织特异性标记物（比如：乳腺癌，肺癌，前列腺癌，结肠癌等上皮细胞来源的肿瘤细胞，肝脏细胞）
- 释放到血液循环中，在血清或者血浆中稳定存在
- 可检测多种 caspase 介导的细胞凋亡（比如 caspase-3,-7,-9）
- 可通过常规的实验方法进行检测：流式细胞仪，ELISA，免疫组化，免疫细胞化学和免疫印迹
- 特异性检测细胞凋亡（检测 caspase 激活；在增殖 / 分化 / 感染时没有假阳性信号）
- 可用于早期细胞凋亡的研究，比常规的 Annexin V 检测的灵敏度更高

ccCK18 的应用

- 作为血清细胞凋亡标记物，在乳腺癌，肺癌，前列腺癌，结肠癌的临床前和临床治疗研究中使用，监测肿瘤细胞凋亡情况；可用于促肿瘤细胞凋亡药物的药效研究
- 肝脏细胞（来源于上皮细胞）凋亡可引起肝纤维化，因此 ccCK18 可用于肝纤维化的研究
- 肝脏损伤中存在肝脏细胞发生凋亡的现象，ccCK18 可作为评价肝脏损伤的标准
- 可用于乙肝，丙肝等肝脏疾病引起的肝脏损伤研究
- 可用于监测药品的不良反应（通过检测肝脏细胞的状态）

在体内实验时，M30 Apoptosense® ELISA 试剂盒可以定量检测 caspase 酶解的 CK18 片段；而 M65® ELISA 试剂盒可以定量检测总的 CK18 的含量（包括酶解和完整的 CK18）。这两种试剂盒配套使用，可以用来确定细胞死亡的形式。



产品编号	产品名称	检测对象	区别
10011*	M30 Apoptosense® ELISA	CK18 片段	mAb M5 作为捕获抗体
10900	M30 CytoDeath™ ELISA	CK18 片段	mAb M6 作为捕获抗体
10040	M65 EpiDeath® ELISA	CK18 片段和完整的 CK18 片段	mAb M5 作为捕获抗体
10020	M65® ELISA	CK18 片段和完整的 CK18 片段	mAb M6 作为捕获抗体

* 原该产品编号为 10010，厂家生产工艺进行调整，升级编号为 10011，在使用上没有区别，如需证明文件，可向我司索取。

M30 CytoDEATH™ 单抗——检测上皮细胞凋亡的黄金标准品

产品编号：10700

未标记

200 次

特点

可特异性识别被 Caspase 酶解后的 CK18 片段，不能识别完整的 CK18。

该抗体可用于 WB、IHC（石蜡或者冰冻切片）、ICC、流式细胞术等。

可适用于固定的组织样品。

检测的整个时间段更长，可比 Annexin V 更早检测出凋亡，比 TUNEL 更晚。

M30 CytoDEATH™ 单抗——Biotin 标记

产品编号：10750

Biotin

200 次

特点

IHC 实验只需两步即可检测上皮细胞凋亡

无需额外二抗、省时省力

特异性检测，无背景干扰

M30 CytoDEATH™ 单抗——荧光染料标记

产品编号：10800

荧光素标记

200 次

产品编号：10830

橙色

200 次

产品编号：10850

红色

200 次

特点

流式细胞术与 ICC 实验只需一步即可检测上皮细胞凋亡

无需额外二抗、省时省力

可以进行多重标记，如分析循环肿瘤细胞 (CTC) 或 GFP 标记的细胞

M5 Keratin 18 antibody——检测 CK18 片段和完整的 CK18

产品编号：10600

200 次

应用：WB，ICC，IHC（FFPE 和 FS），IP，流式细胞检测（FACS）

M6 Keratin 18 antibody——检测 CK18 片段和完整的 CK18

产品编号：10650

200 次

应用：WB，ICC，IHC（FFPE 和 FS），IP，流式细胞检测（FACS）

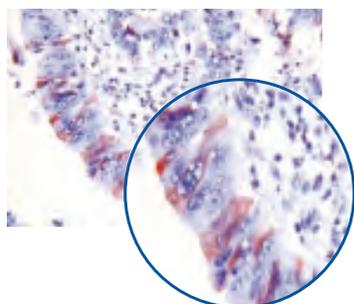


图 1. 人结肠癌石蜡组织切片的凋亡检测。利用 M30 CytoDEATH™ 单抗（产品编号 10700）进行 ccCK18/CK18F 的检测。二抗检测采用生物素标记的抗小鼠 IgG，使用链霉亲和素-POD 进行信号放大（AEC 作为 POD 的显色底物），最后用苏木精复染。

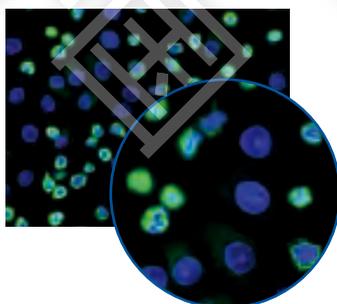


图 2. HeLa 细胞用 CHX（蛋白合成抑制剂）和 TRAIL（诱导细胞凋亡）联合处理之后表现出持续强大的 caspase 活性，并伴随着 ccCK18/CK18F 的积聚。以上采用 M30 CytoDEATH™ 荧光素标记抗体（产品编号 10800）进行检测。

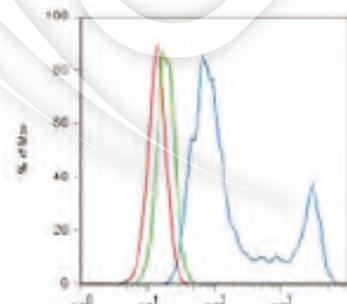


图 3. HeLa 细胞用甲醇固定，然后使用 M30 CytoDEATH™ 橙色荧光标记抗体（产品编号 10830）进行检测。蓝线：凋亡 HeLa 细胞使用 M30 CytoDEATH™ 橙色荧光抗体进行检测；绿线：未处理的 HeLa 活细胞使用 M30 CytoDEATH™ 橙色荧光抗体进行检测；红线：未处理的 HeLa 活细胞不进行检测。

M30 CytoDeath™ ELISA Kit

产品编号：10900

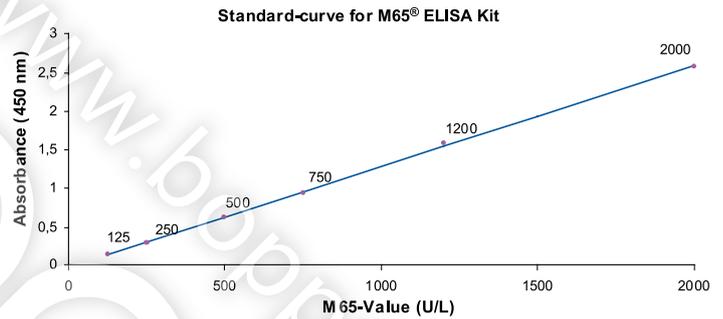
使用 3D- 细胞培养上清，人类器官（如肝脏）、多细胞球样体（如肿瘤干细胞）或组织（如活体组织）培养等进行体外实验定量检测上皮细胞的凋亡情况或者进行毒理学研究；可用于高通量筛选和鉴定促凋亡药物。

特异性	人，猴子，牛
样品类型	表达 CK18 的凋亡细胞和凋亡组织的细胞上清液和裂解液
灵敏度	60U/L, Standard Z (0U/L)+ 3 S.D.
范围	250-3,000 U/L
检测目标物	可溶性 caspase 酶解的 CK18
特点	检测范围广；样品制备简单；冷冻的细胞裂解液也可以进行检测；预铺 ELISA 板、即用试剂，操作方便；可用于自动化

M65® ELISA kit (CE-Mark)

产品编号：10020

体内或体外实验中，定量检测总的细胞死亡（凋亡和坏死）。与 M30 Apoptosense® ELISA kit 联用可以检测上皮细胞凋亡在整个细胞死亡中所占的比例。



特异性	人
样品类型	血清 / 血浆 / 细胞培养上清液
灵敏度	11 U/L, Standard A(0 U/L)+ 2 S.D.
范围	125-2,000 U/L
检测目标物	完整的 CK18 和可溶性 caspase 酶解的 CK18
特点	可进行定量检测；预铺 ELISA 板（可拆卸）、即用试剂，操作方便；可用于自动化

M30 Apoptosense® ELISA kit (CE-Mark)

产品编号：10011

在体内外实验中定量检测上皮细胞的凋亡。使用血浆样品，可以特异性定量检测小鼠模型中人的异种移植物的凋亡情况。

特异性	人
样品类型	含 CK18 的血清或者血浆（EDTA，柠檬酸盐，肝素抗凝血浆）；含有 CK18 阳性的凋亡细胞或者组织的细胞裂解液或者上清
灵敏度	25U/L, Standard A (0U/L)+ 2 S.D.
范围	75-1,000 U/L
检测目标物	可溶性 caspase 酶解的 CK18
特点	可进行定量检测；试剂盒中包含两个阳性对照；预铺 ELISA 板（可拆卸）、即用试剂，操作方便；可用于自动化

M65 EpiDeath® ELISA

产品编号：10040

M65 EpiDeath® ELISA 是 M65® ELISA 的升级版，用于患者血清 / 血浆或细胞培养样品中总 CK18 的测定。

特异性	人
样品类型	血清 / 血浆 / 细胞培养上清液
灵敏度	25U/L
范围	0-5,000 U/L
检测目标物	可溶性 CK18
特点	可进行定量检测；试剂盒包含两个阳性对照；预铺 ELISA 板，即用试剂，操作方便；可用于自动化

参考文献：

M30 Apoptosense® ELISA

- Hägg, M., Bivén, K., Ueno, T., Rydlander, L., Björklund, P., Wiman, K.G., Shoshan, M.C. and Linder, S. (2002) A novel high-through-put assay for screening of pro-apoptotic drugs. *Invest. New Drugs*, 20: 253-259.
- Leers, M.P., Kölgen, W., Björklund, V., Bergman, T., Tribbick, G., Persson, B., Björklund, P., Ramaekers, F.C.S., Björklund, B., Nap, M., Jörnvall, H., and Schutte, B. (1999). Immunocytochemical detection and mapping of a Cytokeratin 18 neo-epitope exposed during early apoptosis. *J Pathol* 187, 567-572.
- Antoine DJ, Jenkins RE, Dear JW, Williams DP, McGill MR, Sharpe MR, Craig DG, Simpson KJ, Jaeschke H, Kevin Park B (2012) Molecular forms of HMGB1 and Keratin-18 as mechanistic biomarkers for mode of cell death and prognosis during clinical acetaminophen hepatotoxicity *J Hepatol* 2012
- Koo JH, Lee MH, Kim SS, Kim DH, Kim IS, Lee KM, Yoo BM, Lee KJ, Kim JH, Cho SW, Cheong JY (2012) Changes in serum histologic surrogate markers and procollagen III N-terminal peptide as independent predictors of HBeAg loss in patients with chronic hepatitis B during entecavir therapy. *Clin Biochem.* 2012, 45(1-2), 31-6
- Moore DJ, Greystoke A, Butt F, Wurthner J, Growcott J, Hughes A, Dive C (2012) A Pilot Study Assessing the Prognostic Value of CK18 and nDNA Biomarkers in Severe Sepsis Patients *Clin Drug Investig* 2012

M65® ELISA

- Antoine DJ, Jenkins RE, Dear JW, Williams DP, McGill MR, Sharpe MR, Craig DG, Simpson KJ, Jaeschke H, Kevin Park B (2012) Molecular forms of HMGB1 and Keratin-18 as mechanistic biomarkers for mode of cell death and prognosis during clinical acetaminophen hepatotoxicity *J Hepatol* 2012
- Koo JH, Lee MH, Kim SS, Kim DH, Kim IS, Lee KM, Yoo BM, Lee KJ, Kim JH, Cho SW, Cheong JY (2012) Changes in serum histologic surrogate markers and procollagen III N-terminal peptide as independent predictors of HBeAg loss in patients with chronic hepatitis B during entecavir therapy. *Clin Biochem.* 2012, 45(1-2), 31-6
- Moore DJ, Greystoke A, Butt F, Wurthner J, Growcott J, Hughes A, Dive C (2012) A Pilot Study Assessing the Prognostic Value of CK18 and nDNA Biomarkers in Severe Sepsis Patients *Clin Drug Investig* 2012
- Arkenau HT, Plummer R, Molife LR, Olmos D, Yap TA, Squires M, Lewis S, Lock V, Yule M, Lyons J, Calvert H, Judson I (2011) A phase I dose escalation study of AT9283, a small molecule inhibitor of aurora kinases, in patients with advanced solid malignancies. *Ann Oncol.* 2011
- Barut O, Vural P, Sirin S, Aydin S, Dizdar Y (2011) The oxidant/antioxidant status and cell death mode in oral squamous cell carcinoma *Acta Odontol Scand.* 2011
- Bilici A, Ustaalioglu BB, Ercan S, Orcun A, Seker M, Salepci T, Gumus M. (2011) Is there any impact of plasma M30 and M65 levels on progression-free survival of patients with advanced gastric cancer? *Cancer Chemother Pharmacol* 2011, 68(2), 309-16

M30 CytoDeath® ELISA

- D'Arcy P, Brnjic S, Olofsson MH, Fryknäs M, Lindsten K, De Cesare M, Perego P, Sadeghi B, Hassan M, Larsson R, Linder S (2011) Inhibition of proteasome deubiquitinating activity as a new cancer therapy. *Nat Med.* 2011,
- Fayad W, Rickardson L, Haglund C, Olofsson MH, D'Arcy P, Larsson R, Linder S, Fryknäs M (2011) Identification of agents that induce apoptosis of multicellular tumour spheroids: enrichment for mitotic inhibitors with hydrophobic properties
- Bhutani KK, Paul AT, Fayad W, Linder S. (2010) Apoptosis inducing activity of steroidal constituents from *Solanum xanthocarpum* and *Asparagus racemosus*. *Phytomedicine.* 2010, 17(10), 789-93
- Brnjic S, Olofsson MH, Havelka AM, Linder S. (2010) Chemical biology suggests a role for calcium signaling in mediating sustained JNK activation during apoptosis. *Mol Biosyst.* 2010, 6(5), 767-74
- Gruenbacher G, Gander H, Nussbaumer O, Nussbaumer W, Rahm A, Thurnher M. (2010) IL-2 costimulation enables statin-mediated activation of human NK cells, preferentially through a mechanism involving CD56+ dendritic cells. *Cancer Res.* 2010, 70(23), 9611-20

更多产品详情，请点击：www.peviva.com

以上试剂仅用于科学研究，请勿用于临床诊断。

2014PE1011A



全国代理



宝柏·中国

www.boppard.cn

info@boppard.cn

北京：+86 10 8580 4838

广州：+86 20 8732 6381

上海：+86 21 6288 4751

香港：+852 2799 9019