

AD-stubRFP-sensGFP-hLC3B 产品说明书

【产品名称】

通用名称：AD-stubRFP-sensGFP-hLC3B

【产品规格】

货 号：FAD2022

规 格：5 支/盒，200 μ L/支

【产品介绍】

自噬 (Autophagy) 是细胞内物质降解的代谢过程。细胞接受自噬诱导信号后，在胞浆被降解物的周围形成一个双层或多层的扁平杯状分隔膜，分隔膜逐渐延伸、弯曲，将要被降解的胞浆成分完全包绕隔离开形成自噬体 (autophagosome) ， 自噬体形成后通过细胞骨架微管系统将其包裹物运至溶酶体内融合形成自噬溶酶体 (autolysosome) ， 最终将胞浆成分降解、实现再循环，以维持细胞自身的稳定。（如图 1）

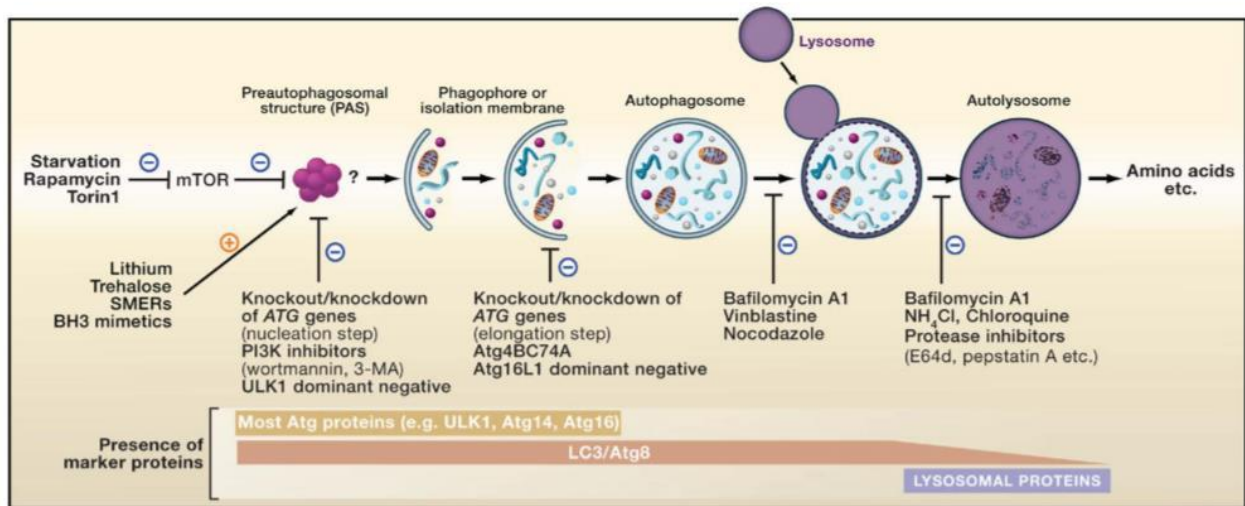


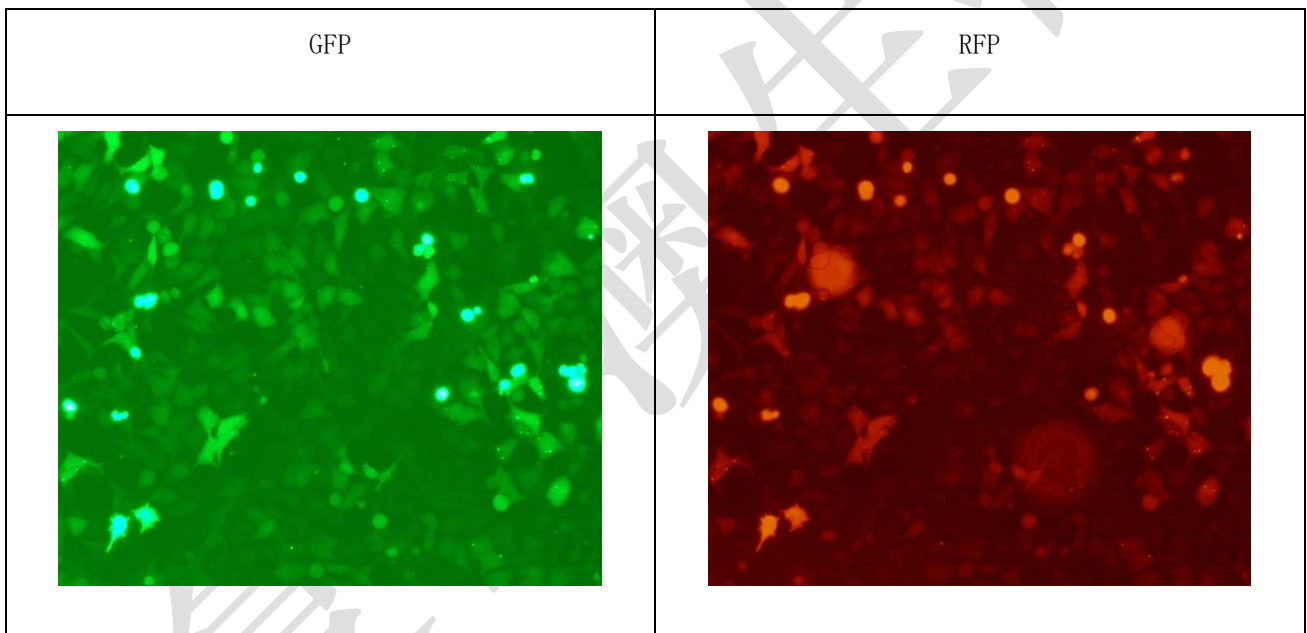
图 1. 自噬的发育过程

自噬的发育主要分以下几个阶段：1 成核阶段、2 延伸阶段、3 自噬体形成阶段、4 自噬体与溶酶体融合阶段、5 酸化阶段、6 消化阶段。研究者可以通过某些化学试剂、抗原、抗体、或其他研究手段(如

RNAi) 在自噬的不同发展阶段进行控制，从而实现对自噬发展过程的调控。

自噬腺病毒是一种经专门优化设计，用来监控细胞自噬流的腺病毒工具产品。其融合蛋白元件包含红色荧光蛋白 stubRFP、绿色荧光蛋白 sensGFP 和自噬标记蛋白 hLC3，可监控自噬体及自噬溶酶体的形成。hLC3 是自噬标志物，自噬发生的初期，胞浆型 hLC3(即 hLC3-I)会酶解掉一小段多肽，转变为膜型 hLC3(即 hLC3-II)，并引导 stubRFP-sensGFP 聚集在自噬体上，荧光显微镜下可观察到红色/绿色共定位的点状聚集。自噬发生后期，溶酶体与自噬体融合形成自噬溶酶体，环境 pH 值发生改变。而 sensGF 绿色荧光蛋白对酸性环境敏感，当环境 pH<5 时 sensGFP 荧光发淬灭，只能检测到红色荧光点状聚集。

【产品侵染示意图】



【主要成分】

葡萄糖、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、氯化钠、氯化钾和腺病毒。

【存储条件及有效期】

冻存于-80±5℃以下，有效期大于 6 个月。

【使用方法】

根据不同细胞的 MOI (MOI 是 multiplicity of infection 的缩写, 中文译为感染复数, 实际的含义即为每个细胞被多少个有活力病毒所感染) 和需要感染的细胞量以及病毒滴度, 计算所需要的病毒量, 然后将所需的病毒加入事先准备好的细胞培养体系中, 培养 12 小时左右即可换成完全培养基正常培养。一般培养至第 24-48 小时, 可在荧光显微镜下观察病毒感染细胞情况。我们强烈建议您在使用我们的产品前进行预实验摸索最适 MOI 值或查阅相关文献后再进行实验。

【注意事项】

1. 实验操作需要在 BSL-2 实验室和 Class II 生物安全柜条件下进行, 并穿戴好实验服、口罩和手套等个人防护用品;
2. 如果实验时本品不慎溅出, 请立即使用 84 消毒液对其进行灭活处理, 如果溅到眼睛、皮肤或其他身体部位请立即使用大量清水冲洗;
3. 使用本品所产生的实验废弃物需要通过高压灭菌处理后按照医疗废弃物处理要求进行处理。

【附录】

stubRFP-sensGFP-hLC3B 序列信息:

```
ATGGTGTCTAAGGGCGAAGAGCTGATTAAGGAGAACATGCACATGAAGCTGTACATGGAGGGCACCGTGAACAACCACCACTTCAAGTGCAC
ATCCGAGGGCGAAGGCAAGCCCTACGAGGGCACCCAGACCATGAGAATCAAGGTGGTCGAGGGCGGCCCTCTCCCTTCGCCTTCGACATCC
TGGCTACCAGCTTCAATGTACGGCAGCAGAACCTTCATCAACCACACCCAGGGCATCCCCGACTTCTTTAAGCAGTCCTTCCCTGAGGGCTTC
ACATGGGAGAGAGTCAACACATACGAAGACGGGGCGTGCTGACCGTACCCAGGACACCAGCCTCCAGGACGGCTGCCTCATCTACAACGT
CAAGATCAGAGGGGTGAACCTCCCATCCAACGGCCCTGTGATGCAGAAGAAAACACTCGGCTGGGAGGCCAACACCGAGATGCTGTACCCG
CTGACGGCGGCCCTGGAAGGCAGAAGCGACATGGCCCTGAAGCTCGTGGGCGGGGCCACCTGATCTGCAACTCAAGACCACATACAGATCC
AAGAAACCCGTAAGAACCTCAAGATGCCCCGGCTCTACTATGTGGACCACAGACTGGAAAGAATCAAGGAGCCGACAAAGAGACCTACGT
CGAGCAGCAGAGGTGGCTGTGGCCAGATACTGCGACCTCCCTAGCAAACCTGGGGCACAACCTAATATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGACCA
CAATGGGCGTAATCAAGCCCGACATGAAGATCAAGCTGAAGATGGAGGGCAACGTGAATGGCCACGCCTTCGTGATCGAGGGCGAGGGCGAG
GGCAAGCCCTACGACGGCACCAACACCATCAACCTGGAGGTGAAGGAGGGAGCCCCCTGCCCTTCTCCTACGACATTCTGACCACCGCGTT
CAGTTACGGCAACAGGGCCTTACCAAGTACCCGACGACATCCCCAACTACTTCAAGCAGTCCTTCCCCGAGGGCTACTCTTGGGAGCGCA
CCATGACCTTCGAGGACAAGGGCATCGTGAAGGTGAAGTCCGACATCTCCATGGAGGAGGACTCCTTCATCTACGAGATACACCTCAAGGGC
GAGAACTTCCCCCAACCGCCCCGTGATGCAGAAGGAGACCACCGGCTGGGACGCCTCCACCGAGAGGATGTACGTGCGCGACGGCGTGCT
GAAGGGCGACGTCAAGATGAAGCTGCTGCTGGAGGGCGGGCCACCACCGGCTTGACTTCAAGACCATCTACAGGGCCAAGAAGGGCGTGA
AGCTGCCGACTATCACTTTGTGGACCACCGCATCGAGATCCTGAACCAGACAAGGACTACAACAAGGTGACCGTTTACGAGATCGCCGTG
GCCCCAACTCCACCGACGGCATGGACGAGCTGTACAAGATGCCGTCGGAGAAGACCTTCAAGCAGCGCCGACCTTCAACAAGAGTAGA
AGATGTCCGACTTATTCGAGAGCAGCATCCAACAAAATCCCGGTGATAATAGAACGATACAAGGGTGAGAAGCAGCTTCTGTCTGGATA
AAACAAAGTTCCTTGTACCTGACCATGTCAACATGAGTGAGCTCATCAAGATAATTAGAAGGCGCTTACAGCTCAATGCTAATCAGGCCTTC
TTCTGTTGGTGAACGGACACAGCATGGTCAGCGTCTCCACCAATCTCAGAGGTGATGAGAGTGAGAAAGATGAAGATGGATTCTGTGA
CATGGTCTATGCCTCCAGGAGACGTTCCGGATGAAATTTGTCAGTGATA
```