

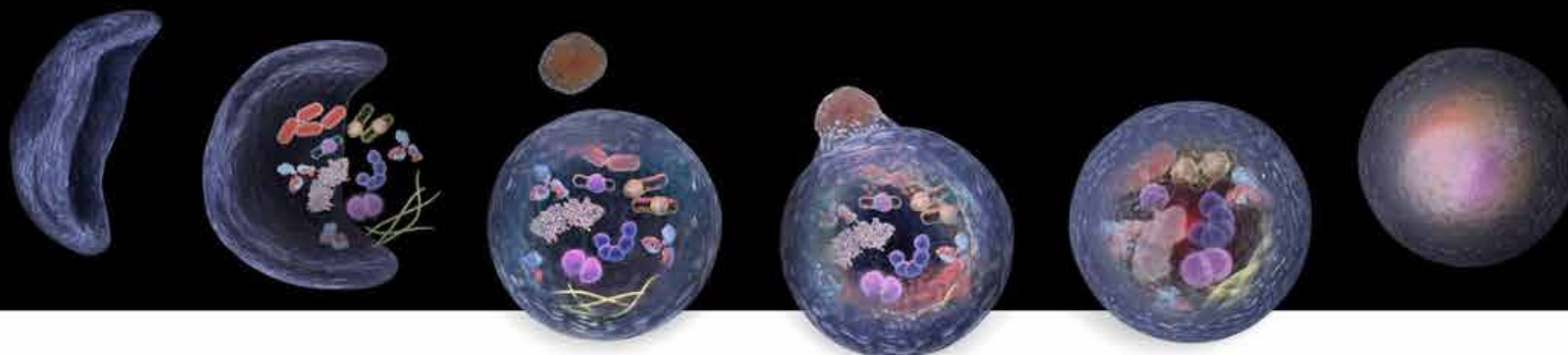
快速发光法自噬检测——实验结果轻松解读

Autophagy LC3 HiBiT Reporter Assay System

Autophagy LC3 HiBiT Reporter Assay System 是一种基于微孔板的检测，它利用连接 LC3 的报告基因，通过发光法来定量测定自噬流。轻松的一步操作省去了洗涤步骤，无需要复杂的成像系统或流式细胞仪。

您可以选择两种制备好的报告细胞系（HEK293 或 U2OS），也可以将报告载体稳定转染到您选择的细胞系。

- ★ 定量且结果明确的 LC3 报告基因检测
- ★ 加样 - 混合 - 检测的简单操作
- ★ 可扩展到高通量应用
- ★ 灵活：提供报告基因稳转细胞系，也提供载体 + 检测试剂
- ★ 可检测 2D 和 3D 培养细胞

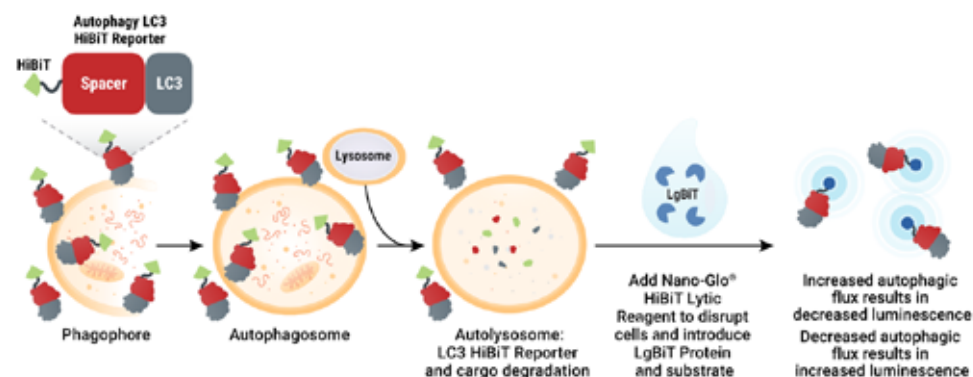


目录号	产品	规格
GA1040	HEK293 Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line	1 each
GA1050	U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell Line	1 each
GA2550	Autophagy LC3 HiBiT Reporter Vector	1 each

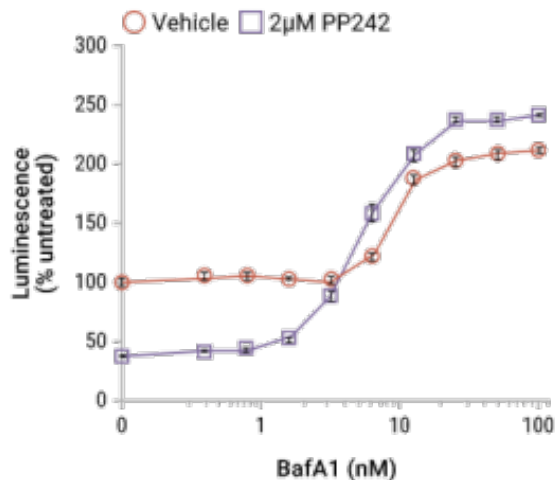
* 细胞系和载体试剂盒均包含 Nano-Glo® HiBiT Lytic Detection System。

检测原理

Autophagy LC3 HiBiT Reporter 包含与人 LC3 蛋白融合的 HiBiT 标签。在诱导自噬时，部分 LC3 报告蛋白被自噬体捕获并降解。在加入含有 LgBiT 蛋白和底物的 Nano-Glo® HiBiT Lytic Reagent 后，LgBiT 与 HiBiT 标签发生相互作用，重新组成明亮发光的 NanoBiT® 酶。在多达 7 个数量级的范围内，发光信号与 HiBiT 标记的 LC3 报告蛋白成正比。

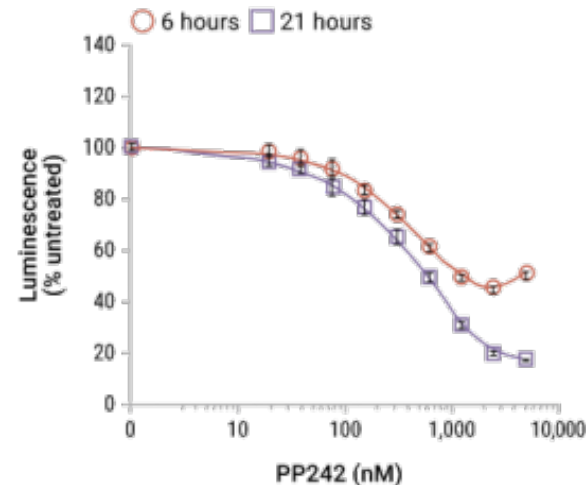


自噬抑制：增加的信号

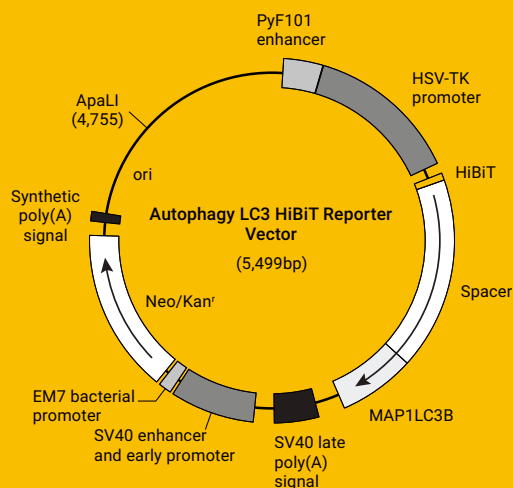


以每孔 8,000 个细胞的密度，将 U2OS Autophagy LC3 HiBiT Reporter Cell 铺在 96 孔白板上。在细胞附着过夜后，用浓度递增的参照抑制剂 Baf A1（不含或含有 2 µM PP242）处理细胞，时间为 21 小时。根据未处理的对照组对发光信号进行均一化。PP242 处理明显增加了自噬，减弱了发光信号，让自噬抑制剂 Baf A1 处理导致的信号增强更加明显。

自噬诱导：下降的信号



以每孔 20,000 个细胞的密度，将 HEK293 Autophagy LC3 HiBiT Reporter cell 铺在 96 孔白板上。在细胞附着过夜后，用浓度递增的参照自噬诱导剂 PP242 对细胞进行指定时间的处理，3 个复孔。然后，加入 Nano-Glo® HiBiT Lytic Reagent，在 10 分钟后测定发光。图中显示为应用溶剂对照组对发光信号进行均一化的读数平均值。



Autophagy LC3 HiBiT 报告基因载体

Autophagy LC3 HiBiT Reporter 包含人 LC3B、N 端的 HiBiT 标签，以及在自噬通路中增强报告基因特异性的中间“Spacer”区域。它利用带有 PyF101 增强子的组成型 HSV-TK 启动子，让报告基因在哺乳动物的细胞中实现低至中等水平的表达。该载体还包含新霉素 - 卡那霉素抗性基因，可通过 Geneticin (G418) 的选择压力构建稳定克隆。



扫码关注 Promega 微信公众号

普洛麦格（北京）生物技术有限公司

地址：北京市东城区北三环东路 36 号环球贸易中心 B 座 907-909

电话：010-58256268 传真：010-58256160

网址：www.promega.com

技术支持电话：8008108133

技术支持邮箱：chinatechserv@promega.com